



Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos

Laura Villamizar, Paola Cuartas, Juliana Gómez, Gloria Patricia Barrera, Carlos Espinel, Miguel Lopez-Ferber

► To cite this version:

Laura Villamizar, Paola Cuartas, Juliana Gómez, Gloria Patricia Barrera, Carlos Espinel, et al.. Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros: agentes de control biológico, 2018, 978-958-740-252-0. hal-02923906

HAL Id: hal-02923906

<https://imt-mines-ales.hal.science/hal-02923906>

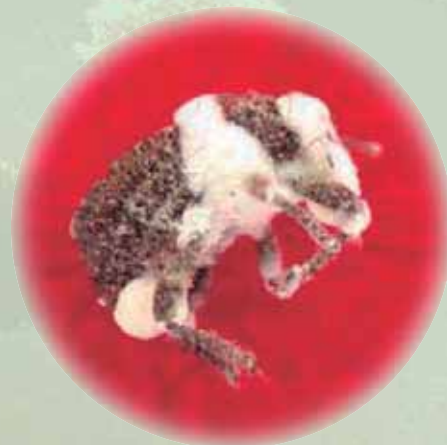
Submitted on 27 Aug 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

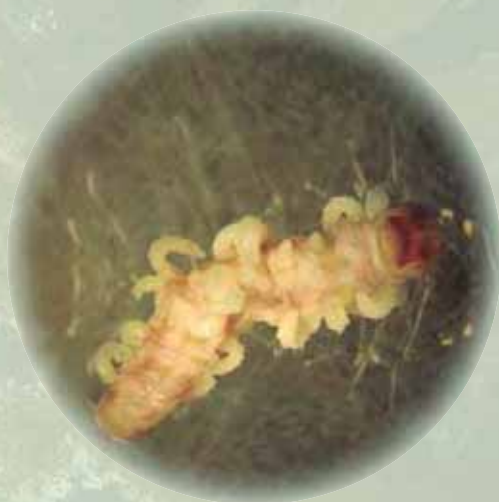


Control biológico

de fitopatógenos, insectos y ácaros

Volumen 1. Agentes de control biológico

Alba Marina Cotes
Editora



AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Alba Marina Cotes



Alba Marina Cotes es doctora en ciencias agronómicas de la Universidad de Lieja, en Bélgica (Gembloux Agrobiotec), tiene dos maestrías, una en biotecnología agrícola de esta misma universidad y otra en microbiología de la Universidad de los Andes de Colombia, y es licenciada en biología y química de la Universidad Libre. Es investigadora emérita de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), donde se ha desempeñado como líder del Grupo de Control Biológico de Plagas Agrícolas, directora de laboratorio y directora de centro de investigación. Sus áreas de acción profesional se enfocan en el control biológico, el desarrollo de bioplaguicidas, el manejo integrado de plagas y la biodiversidad microbiana. Luego de 24 años de trabajo en esta institución dedicará sus esfuerzos futuros a la consultoría en estos temas.

Continúa en la solapa siguiente...

Control biológico

de fitopatógenos, insectos y ácaros

Alba Marina Cotes
Editora

Volumen 1

Agentes de control biológico



Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros / Alba Marina Cotes (Editora) -- Mosquera, (Colombia) : AGROSAVIA, 2018.

2 v. (Volumen 1: Agentes de control biológico - 568 páginas) -- (Colección Nuevo Conocimiento Agropecuario)
Incluye referencias bibliográficas, ilustraciones y datos numéricos

ISBN Obra completa(e): 978-958-740-252-0

ISBN Volumen 1(e): 978-958-740-253-7

1. Control biológico 2. Métodos de control 3. Enfermedades de las plantas 4. Fitopatología 5. Control de insectos 6. Enemigos naturales I. Cotes, Alba Marina (Editora).

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura Agrovoc

Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Centro de Investigación Tibaitatá. Kilómetro 14 vía Mosquera-Bogotá. Código postal 250047, Colombia

Centro de Investigación Palmira. Diagonal a la intersección de la carrera 36A con calle 23 Palmira, Valle del Cauca. Código postal 763533, Colombia

Centro de Investigación La Libertad. Kilómetro 91, vía Puerto López-Puerto Gaitán, Meta. Código postal 502007, Colombia

Centro de Investigación Caribia. 65 km al sur de la capital de Santa Marta, Sevilla, Zona Bananera, Magdalena. Código postal 478020, Colombia

Centro de Investigación El Mira. Kilómetro 38, vía Tumaco-Pasto, Nariño. Código postal 528501, Colombia

Colección: Nuevo Conocimiento Agropecuario

Fecha de recepción: 07 de noviembre de 2017

Fecha de evaluación: 27 de noviembre de 2017

Fecha de aceptación: 23 de abril de 2018

Publicado octubre de 2018

Preparación editorial

Editorial AGROSAVIA

editorial@agrosavia.co

Editora científica: Alba Marina Cotes

Editora de contenidos: Liliana Gaona García

Asistentes editoriales: Víctor Camilo Pulido Blanco y Christian David Vargas Baquero

Corrección de estilo: Luz Ángela Uscátegui Cuellar, Jorge Enrique Beltrán Vargas, Edwin Daniel Algarra Suárez y Luisa Fernanda Espina Rodríguez

Realización gráfica: María Cristina Rueda Traslaviña, Wilson Martínez Montoya y Claudia Patricia Castiblanco

Impresión: Fundación Cultural Javeriana de Artes Gráficas (JAVEGRAF)

Citación sugerida: Cotes A. M. (Ed.). (2018). *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (Vol. 1). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Cláusula de responsabilidad: AGROSAVIA no es responsable de las opiniones e información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando en este último supuesto que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación; igualmente, declaran que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente, frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros relativa a los derechos de autor u otros derechos que se hubieran vulnerado como resultado de su contribución.

Nota aclaratoria: A partir de mayo de 2018, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria cambió su acrónimo Corpoica por AGROSAVIA

Línea de atención al cliente: 018000121515

atencionalcliente@agrosavia.co

www.agrosavia.co



https://co.creativecommons.org/?page_id=13

Capítulo 7

Virus entomopatógenos en el control biológico de insectos

Chapter 7

Entomopathogenic viruses in the biological control of insects

Laura Villamizar,¹ Paola Cuartas,² Juliana Gómez,²
Gloria Patricia Barrera,² Carlos Espinel,² Miguel Lopez-Ferber³

¹ AgResearch Ltd. Lincoln Science Centre

² Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

³ IGEI, Mines Alès, Institut Mines-Télécom y Montpellier Université
d'Excellence

Contenido

Contexto histórico	372
Clasificación, hospederos y uso en control biológico	374
Ascoviridae	376
Iridoviridae	376
Baculoviridae	377
Poxviridae	381
Polydnaviridae	381
Reoviridae	382
Parvoviridae (densovirus)	382
Ejemplos de desarrollo y uso de baculovirus como bioinsecticidas	383
Granulovirus de <i>Phthorimaea operculella</i> para el control de la polilla guatemalteca de la papa en Colombia	383
Nucleopoliedrovirus de <i>Spodoptera frugiperda</i> para el control del gusano cogollero del maíz en Colombia	385
Granulovirus de <i>Erinnyis ello</i> para el control del gusano cachón en cultivos de caucho en Colombia	386
Granulovirus de <i>Cydia pomonella</i> para el control de la polilla del manzano en Europa y Estados Unidos	387
Nucleopoliedrovirus de <i>Anticarsia gemmatilis</i> para el control de la oruga de las leguminosas en Brasil	388
Productos en el mercado	389
Estrategias de potenciación para mejorar la actividad biocontroladora de los baculovirus	390
Limitantes para la producción y el uso de virus entomopatógenos	392
Limitantes ambientales	392
Limitantes para la producción viral	394
Conclusiones y perspectivas	397
Agradecimientos	400
Referencias	401

Resumen

En este capítulo se sintetizan las posibilidades de uso de virus para controlar los insectos plagas de los cultivos. Desde los primeros trabajos relativamente empíricos hasta los desarrollos actuales, se describe el potencial de diferentes familias de virus para regular las poblaciones de insectos. Sin embargo, solo virus de una familia, los baculovirus, han podido ser registrados como agentes de control biológico. El proceso necesario para llegar del descubrimiento de un aislado viral hasta la producción de un bioinsecticida se muestra con ejemplos reales. Las estrategias de este uso han conducido, en un caso, a la aparición de resistencia, lo cual permite plantear las diferencias entre el modo de acción natural y el aplicado en los agroecosistemas, proponiendo nuevas vías de uso, más sostenibles desde el punto de vista ecológico.

Palabras clave

Baculovirus, bioplaguicida, entomopatógeno, virus

Abstract

This chapter presents a summary of the possible uses of viruses to control insect pests of crops. Since the first relatively empirical works through to current developments, the potential of different families of viruses to regulate insect populations has been recognized. However, only viruses of one family, the baculovirus, have been able to be registered as biological control agents. The process necessary to go from discovering a viral isolate to producing a biopesticide is shown with real examples. Previous application strategies for viruses against insects have given rise to host resistance. We suggest an alternative strategy which adopts an ecological point of view in order to ensure sustainable use of these valuable control agents.

Keywords

Baculovirus, biopesticide, entomopathogen, virus

Contexto histórico

Los virus son la forma más simple de vida y consisten básicamente en un ácido nucleico y una proteína de cubierta (cápsida) que juega un papel importante en el proceso de infección. La nucleocápside puede estar rodeada por una bicapa lipídica formando un virión, y algunos viriones se encuentran embebidos en una matriz proteica denominada *cuerpo de inclusión* (CI) (Del Rincón & Ibarra, 2011).

La imposibilidad de observar la mayoría de los virus, debido a su pequeño tamaño, hizo que la identificación de agentes virales haya sido más lenta que la de otros agentes, como las bacterias o los hongos. Solo los virus que producen cuerpos de inclusión pueden ser observados en el microscopio óptico, aun cuando estos cuerpos de inclusión se encuentran próximos al límite de resolución. Los virus que producen cuerpos de inclusión son los baculovirus (virus de poliedrosis nuclear y virus de granulosis), los entomopoxvirus

y los cypovirus (reovirus de insectos) (Caballero & Williams, 2008; Del Rincón & Ibarra, 2011).

La proposición más antigua conocida acerca de la transmisión de una patología viral se encuentra en el texto de Vida (1527), en su libro sobre la cría del gusano de seda. En este poema, Vida describe la patología e indica que en la hemolinfa se acumulan “cristales de sal”, enfermedad denominada *la grasería*, cuya transmisión podría hacerse mediante la aspersión de la hemolinfa de gusanos muertos que contienen estos cristales sobre hojas de morera, que servirán de alimento a gusanos sanos (figura 7.1).

La relación entre el agente de la “grasería” y los “cristales de sal”, según la descripción de Vida, fue objeto de estudios y debate entre 1870 y 1940. La evolución de los conocimientos para llegar a admitir que estos cristales en forma de poliedro contenían el agente causal de la enfermedad, es decir, lo que Vida

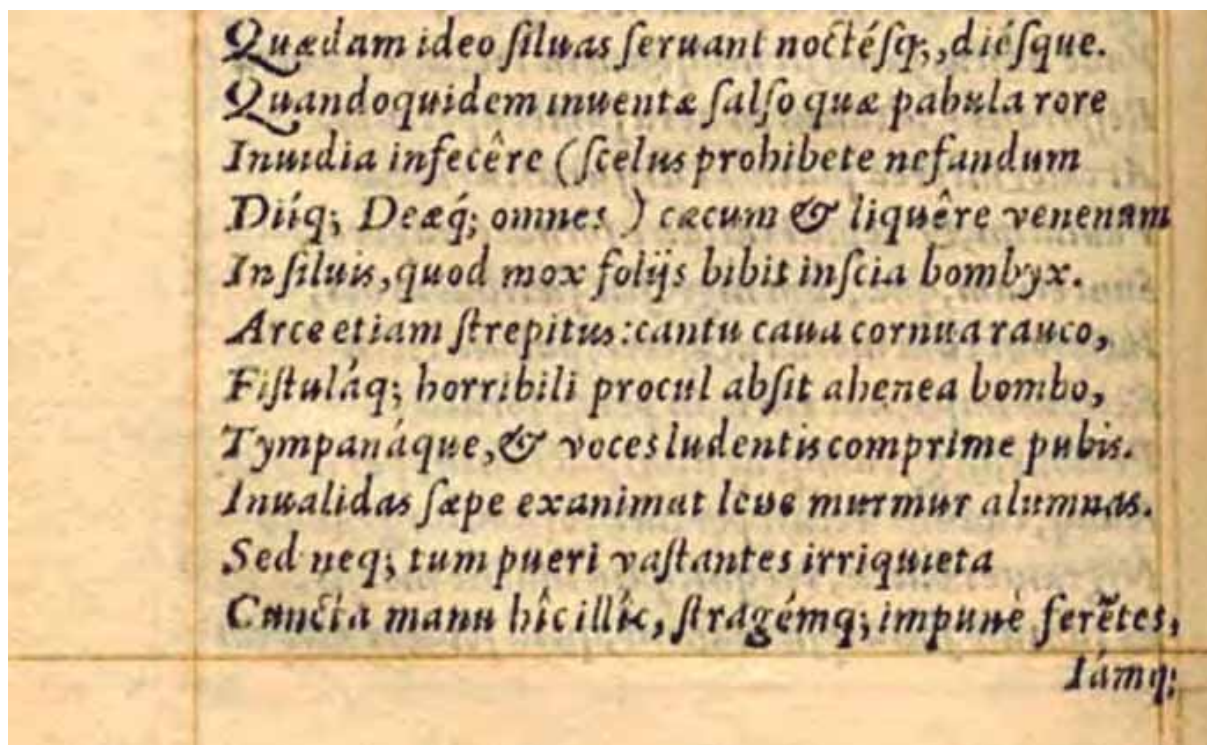


Figura 7.1. Extracto de Vida (1527), *De Bombyce*, libro II.

Fuente: Universität Mannheim (s. f.)

intuía en 1527, está magistralmente descrita por Benz (1986). En 1924, Komárek y Breindl demostraron que los poliedros contenían el agente infeccioso, pero que este también podía existir en forma libre.

Las epizootias en las poblaciones naturales de *Lymantria monarca* (L) permitieron observar que las larvas muertas del Wipfelkrankheit presentaban poliedros similares a los de la grasería (Von Tubeuf, 1892). En este mismo año, Gehren (1982, citado por Huber, 1986), que pensaba que los poliedros eran bacterias, intentó cultivarlos en un medio de carne y papa para transmitir la infección, siguiendo la idea, propuesta por LeConte (1874), de combatir la plaga con su propia enfermedad.

Después Paillot, en 1926, descubrió otro tipo de agente patógeno en el gusano de la berza, *Pieris brassicae* (L). Este agente producía cuerpos de inclusión mucho más pequeños que los poliedros, apenas visibles con el microscopio óptico (Paillot, 1926). En los años siguientes, este autor describió agentes similares en varias especies de insectos de interés agronómico, en enfermedades conocidas como *granulosis*.

Antes de 1940, la mayoría de los estudios se focalizaron en la identificación de los agentes causales de las poliedrosis y de las granulosis. En cuanto el microscopio electrónico, desarrollado entre 1928 y 1933 (Kruger, Schneck, & Gelderblom, 2000), tuvo una resolución superior a la del microscopio óptico, la identificación de otros agentes virales fue posible.

En la década de 1940 se demostró de forma convincente que las graserías (poliedrosis) eran causadas por virus en forma de bastón y se desarrollaron las técnicas que permitieron su purificación. También se tomaron las primeras imágenes de baculovirus con microscopía electrónica (Bergold, 1947) y estos trabajos estimularon a otros investigadores en Europa, América del Norte y Japón para estudiar la biología de los baculovirus en detalle y para utilizarlos en el control biológico.

Ya en la década anterior, Ishimori (1934) publicó sus observaciones sobre las patologías de la grasería. Este autor describió ciertos tipos de grasería en los cuales, contrario a lo que es habitual, se observaba una multiplicación importante de los poliedros en las células del tubo digestivo. Con el desarrollo de

la microscopía electrónica, rápidamente se observó que los poliedros producidos en ciertos insectos eran diferentes de los observados por Bergold (1947), ya que, al disolverlos, en lugar de producir viriones en forma de bastón, producían viriones esféricos (Smith & Wyckoff, 1950). Poco después, Xeros (1952) diferenció los dos grupos de virus productores de poliedros: los causantes de las poliedrosis nucleares, con virus en forma de bastón, y los causantes de las poliedrosis citoplasmáticas, con forma de esfera.

Las primeras referencias a la patología de insectos se remontan a Aristóteles, que describe ciertas enfermedades de las abejas en su trabajo *Historia Animalum*. Kirby y Spencer (1826) dedicaron un capítulo a las enfermedades de los insectos en su libro *An Introduction to Entomology*. Este capítulo está dedicado, en su mayoría, al gusano de seda, que ha motivado la mayoría de los trabajos más antiguos. Así, Bassi (1835), en Italia, fue el primero que demostró experimentalmente que un microorganismo era la causa de una enfermedad infecciosa. Se trataba del hongo *Beauveria bassiana*. Los trabajos de Pasteur en Alès, entre 1865 y 1870 (Pasteur, 1870), permitieron restaurar la producción de seda en la región de Cevennes, gracias al desarrollo de técnicas de selección y de asepsia.

Los trabajos sobre la patología de los insectos se desarrollaron originalmente con una visión de protección de los insectos útiles, pero con el tiempo se amplió hacia el uso de virus para combatir los insectos nocivos, plagas de cultivos o vectores de enfermedades. La publicación del libro *Principles of Insect Pathology* de Steinhaus (1949) marcó un punto clave en el desarrollo de esta disciplina. Entre las décadas de 1950 a 1980 se exploró el uso de diferentes tipos de virus entomopatógenos en diferentes países, y en los apartados que siguen en este capítulo se describen algunos resultados de control. Sin embargo, muchos de estos ensayos, algunos de ellos muy exitosos, no se transformaron en realidades industriales, salvo en el caso de algunos baculovirus, en gran parte debido al temor que despertaba el riesgo de infecciones por estos virus en vertebrados y principalmente en el hombre. Actualmente los únicos virus que se encuentran en productos registrados son baculovirus, pero hay grandes esfuerzos para demostrar la seguridad del uso de otras familias de virus entomopatógenos.

Clasificación, hospederos y uso en control biológico

La clasificación de los virus patógenos de insectos ha cambiado con el paso del tiempo. Inicialmente, se agruparon de acuerdo con la presencia o ausencia de cuerpos de inclusión (ci) y la morfología del virión, y después se utilizaron otros criterios, como el grupo de hospederos y el tipo de tejido afectado. Actualmente se clasifican siguiendo los parámetros utilizados para

la clasificación de los virus patógenos de animales, como, por ejemplo: el tipo de ácido nucleico, la simetría de las subunidades de la cubierta de proteína, la forma y el tamaño de la partícula viral y la presencia o ausencia de envoltura (Del Rincón & Ibarra, 2011). La clasificación y las características generales de los virus entomopatógenos se presenta en la tabla 7.1.

Tabla 7.1. Características de las principales familias y géneros de los virus entomopatógenos

Familia (subfamilia) género	Ácido nucleico ^a	Cuerpo de inclusión	Virión envuelto	Forma del virión	Hospederos ^b	Sitio de replicación
Ascoviridae						
<i>Ascovirus</i>	csADN	No	Sí	Baciliforme,	L	Núcleo: cuerpo
<i>Toursvirus</i>		No	Sí	ovoide o alantoide	Hy	graso, hipodermis y matriz traqueal
Baculoviridae						
<i>Alphabaculovirus</i>	cdADN	Sí	Sí	Baciliforme	L	Núcleo: intestino
<i>Betabaculovirus</i>		Sí	Sí		L	medio o infección
<i>Deltabaculovirus</i>		Sí	Sí		D	sistémica
<i>Gammabaculovirus</i>		Sí	Sí		Hy	
Iridoviridae (Betairidovirinae)						
<i>Chloriridovirus</i>	cdADN	No	No	Icosaédrica	C, D, He, L, O, Tr, D	Núcleo y citoplasma:
<i>Iridovirus</i>		No	No			cuerpo graso, hemocitos, hipodermis, algunas veces sistémica
Hytrosaviridae						
<i>Glossinavirus</i>	cdADN	No	Sí	Baciliforme	D	Núcleo: glándula
<i>Muscavirus</i>		No	Sí		D	salivar, ovarios y tejidos gonadales
Nudiviridae						
<i>Alphanudivirus</i>	cdADN	No	Sí	Baciliforme	O, C	Núcleo: intestino
<i>Betanudivirus</i>		No	Sí		L	medio o infección sistémica
Parvoviridae (Densovirinae)						
<i>Ambidensovirus</i>	csADN	No	No	Redondeada	D, He, Hy,	Núcleo: mayoría
<i>Brevidensovirus</i>		No	No		L, O	de tejidos,
<i>Iteravirus</i>		No	No		D	excepto el
Sin clasificar		No	No		L, O	intestino medio

(Continúa)

(Continuación tabla 7.1)

Familia (subfamilia) género	Ácido nucleico ^a	Cuerpo de inclusión	Virión envuelto	Forma del virión	Hospederos ^b	Sitio de replicación
Polydnaviridae						
<i>Bracovirus</i>	cdADN	No	Sí	Cilíndrica	Hy	No en
<i>Ichnovirus</i>		No	Sí	Elipsoide	Hy	parasitoides. Hemocitos y cuerpo graso
Poxviridae (Entomopoxvirinae)						
<i>Alphaentomopoxvirus</i>	cdADN	Sí	Sí	Ovoide	C	Citoplasma: principalmente en cuerpo graso y hemocitos, pero otros órganos se pueden infectar
<i>Betaentomopoxvirus</i>		Sí	Sí		L, O	
<i>Gammaentomopoxvirus</i>		Sí	Sí		L, O	
Sin clasificar		Sí	Sí		Hy, O	
Birnaviridae						
<i>Entomobirnavirus</i>	csARN	No	No	Icosaédrica	D	Citoplasma: no en tejidos, adultos sensibles al CO ₂
Dicistroviridae						
<i>Aparavirus</i>	csARN	No	No	Icosaédrica	Hy	Intestino y sistema reproductor
<i>Cripavirus</i>		No	No		He, O, D	
<i>Triatovirus</i>		No	No		He	
Iflaviridae						
<i>Iflavirus</i>	csARN	No	No	Icosaédrica	L, Hy, He	Citoplasma: células epiteliales del intestino medio y células caliciformes
Metaviridae						
<i>Errantivirus</i>	csARN	No	No/Sí	Esféricos u ovoides	D	Hemocitos, infección sistémica
<i>Metavirus</i>		No	No		L, D, C	
<i>Semotivirus</i>		No	No/Sí		D	
Nodaviridae						
<i>Alphanodavirus</i>	csARN	No	No	Icosaédrica	C, D, L	Citoplasma: intestino y después infección sistémica
Pseudoviridae						
<i>Hermivirus</i>	csARN	No	No	Redondeada	D	Citoplasma o núcleo
Reoviridae (Spinareovirinae)						
<i>Cypovirus</i>	cdARN	Sí	No	Icosaédrica	L, Hy	Citoplasma: células del intestino
<i>Idnoreovirus</i>		No	No		L, Hy	
(Sedoreovirinae)		No	No		D	
<i>Seadornavirus</i>						

(Continúa)

(Continuación tabla 7.1)

Familia (subfamilia) género	Ácido nucleico ^a	Cuerpo de inclusión	Virión envuelto	Forma del virión	Hospederos ^b	Sitio de replicación
Alphatetraviridae						
<i>Betatetravirus</i>	csARN	No	No	Icosaédrica	L	Citoplasma: infección crónica
<i>Omegatetravirus</i>		No	No		L	
Carmotetraviridae						
<i>Alphacarmotetravirus</i>	csARN	No	No	Icosaédrica	L	Citoplasma: células del intestino medio
Permutotetraviridae						
<i>Alphapermutotetravirus</i>	csARN	No	No	Icosaédrica	L	Citoplasma: células del intestino medio

a ADN o ARN cs: cadena sencilla; cd: cadena doble.

b Órdenes de insectos: C: Coleoptera; D: Diptera; Di: Dictioptera; He: Hemiptera; Hy: Himenoptera; L: Lepidoptera; O: Ortoptera; Od: Odonata; Tr: Trichoptera.

Fuente: Elaboración propia con base en Caballero y Williams (2008) y Rohrmann (2011)

Con base en esta clasificación, a continuación se describirán algunas de las familias o géneros virales que han sido estudiados o eficientemente utilizados para el control biológico de insectos.

Ascoviridae

Los virus de la familia Ascoviridae son virus ADN de doble cadena con viriones de forma baciliforme (Federici, Bideshi, Tan, Spears, & Bigot, 2009). Estos virus son transmitidos por avispas parasitoides a las larvas y pupas de lepidópteros, principalmente de la familia Noctuidae, causando una prolongada y fatal enfermedad (Cheng, Carner, & Arif, 2000; Federici & Govindarajan, 1990). El desarrollo de la larva es atrofiado por la infección viral y modifica la muerte celular programada o apoptosis (Bideshi, Bigot, Federici, & Spears, 2010), lo que favorece la replicación del virus y la formación de grandes vesículas llenas de viriones que circulan libremente por la hemolinfa del insecto infectado (Caballero & Williams, 2008).

El ciclo de infección empieza por el mantenimiento y la diseminación de las partículas virales en el

insecto infectado, seguido de la transmisión a nuevos hospederos a través de hembras de avispas parasitoides que contaminan su ovipositor al introducirlo en las larvas infectadas. Después, estas hembras contaminadas continúan diseminando el virus horizontalmente a nuevos hospederos, con una eficiencia del 80 % (Bideshi et al., 2010). Dicho mecanismo es muy eficiente en campo, por lo que estos virus pueden ser un importante componente del complejo de enemigos naturales en poblaciones de lepidópteros plaga. Sin embargo, su lenta progresión y la ausencia de síntomas de infección viral de fácil reconocimiento han limitado su uso como bioinsecticidas (Caballero & Williams, 2008).

Iridoviridae

Los iridovirus infectan solamente animales poiquilothermos: peces, anfibios y reptiles (dentro de los vertebrados), además de insectos, crustáceos y moluscos (en los invertebrados) (Williams, Barbosa-Solomieu, & Chinchir, 2005). La familia Iridoviridae se divide en dos subfamilias (International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV], 2016; Williams & Ward, 2010), de las cuales, en la subfamilia Betairidoviridae,

se encuentra el género *Iridovirus* que es específico de invertebrados (sobre todo insectos), y el género *Chloriridovirus*, que infecta dípteros (mosquitos). Estos virus no forman cuerpos de inclusión (CI) y sus viriones están envueltos (Del Rincón & Ibarra, 2011). Son virus DNA de doble cadena, con una partícula viral de forma icosaédrica y tamaño entre 125 a 300 nm, que tienen la particularidad de presentar iridiscencia debido al arreglo cristalino de los viriones en el citoplasma de las células infectadas. Esta iridiscencia es evidenciada en los insectos enfermos, que pueden presentar diferentes colores (violeta, azul, naranja o verde). El mecanismo de acción es por ingestión. Una vez las partículas virales son ingeridas por el hospedero, el virus se replica en el cuerpo graso de los insectos, aunque también pueden encontrarse en el citoplasma de las células sanguíneas epidérmicas y en el tejido embrionario (Rodríguez, Salas, & Viñuela, 1992).

Se han aislado virus iridiscentes en mosquitos como *Aedes taeniorhynchus*, con el cual se hicieron experimentos de transmisión que demostraron que provocaba mortalidad en las larvas y que podía ser transmitido verticalmente por una generación (Linley & Nielsen, 1968). Sin embargo, los porcentajes de mortalidad producidos por estos virus son bajos (alrededor de 11 %), pero las infecciones persistentes afectan de forma significativa la eficacia biológica del insecto hospedero y reducen la fecundidad entre un 22 y un 40 %. Los iridovirus parecen ser un factor importante de mortalidad en las poblaciones naturales de invertebrados (Williams et al., 2005), aunque no se ha establecido su importancia en la regulación de las poblaciones de insectos y no se consideran con gran potencial en el control biológico (Williams & Ward, 2010).

Baculoviridae

La familia Baculoviridae es la más numerosa y ampliamente estudiada de todos los grupos de virus patógenos de insectos y han sido exitosamente utilizados para el control de insectos de importancia agrícola (Kelly, 1982; Moscardi, 1999).

Estos virus tienen una molécula de ADN circular superenrollado, de tamaño entre 80 y 180 kilobases, envuelta por una capa de proteínas compuestas de

subunidades denominadas *capsómeros* que forman la cápside. Una o más nucleocápsides (NC) alargadas (30-60 nm de diámetro y 250-300 nm de largo) están envueltas por una membrana generalmente formada por material celular del hospedero. Esta envoltura y la nucleocápside constituyen el virión, que es la unidad infectiva del virus. Los viriones tienen forma bacilar y están inmovilizados en una matriz de proteína formando la estructura denominada *cuerpo de inclusión* (CI) (Caballero & Williams, 2008).

Esta familia consta de cuatro géneros asignados de acuerdo con características moleculares, biológicas y estructurales, principalmente de los CI: los alphabaculovirus correspondientes a nucleopoliedrovirus (NPV) aislados de lepidópteros, los betabaculovirus o granulovirus (GV) aislados de lepidópteros, los gammabaculovirus o NPV aislados de himenópteros y los deltabaculovirus o NPV aislados de dípteros (ICTV, 2016; Jehle et al., 2006; Miele, Garavaglia, Belaich, & Ghiringhelli, 2011).

Los NPV se caracterizan por poseer cuerpos de inclusión (CI) de forma poliédrica o irregular, con tamaños variables entre 0,1 y 15 μm . Cada CI posee múltiples viriones (figura 7.2a) que, a su vez, pueden contener una o varias nucleocápsides, por lo que se clasifican en NPV-S (simples) o NPV-M (múltiples) (Caballero, López-Feber, & Williams, 2001; Kelly, 1982). Los CI están constituidos por una matriz proteica cristalina cuyo componente principal es la poliedrina (con un peso molecular entre 25-33 kDa). Estos virus se replican en el núcleo de las células de varios tejidos (poliorganotrópicos), incluida la epidermis de las larvas infectas, en donde se producen millones de partículas virales que son diseminadas al medio después de la muerte del insecto. Por su parte, los GV se caracterizan por su forma granular, pequeños CI constituidos por una proteína mayoritaria denominada *granulina*, con tamaños que oscilan entre los 160-300 nm de ancho por 300-500 nm de largo y, en la mayoría de los casos, con viriones de tipo simple, los cuales están incluidos individualmente en los CI (figura 7.2b) (Possee et al. 2010). Su patología depende del tipo de virus y se han identificado tres tipos de infección. En el tipo 1, como es el caso del GV de *Trichoplusia ni*, el virus invade al hospedero a través del epitelio del intestino medio, pero posteriormente solo infecta el tejido del

cuerpo graso (Federici, 1993). Debido a que no se atacan otros tejidos importantes, la larva puede vivir más tiempo, mantener su apetito y crecer más, pero cambia su estado a letárgico uno o dos días antes de su muerte. Después de la infección, las larvas se hinchan

y desarrollan un aspecto cremoso de color blanco debido a la acumulación, en el cuerpo graso, de un gran número de células infectadas llenas de gránulos virales. Normalmente no hay licuefacción del tejido, ya que la epidermis no se encuentra infectada.

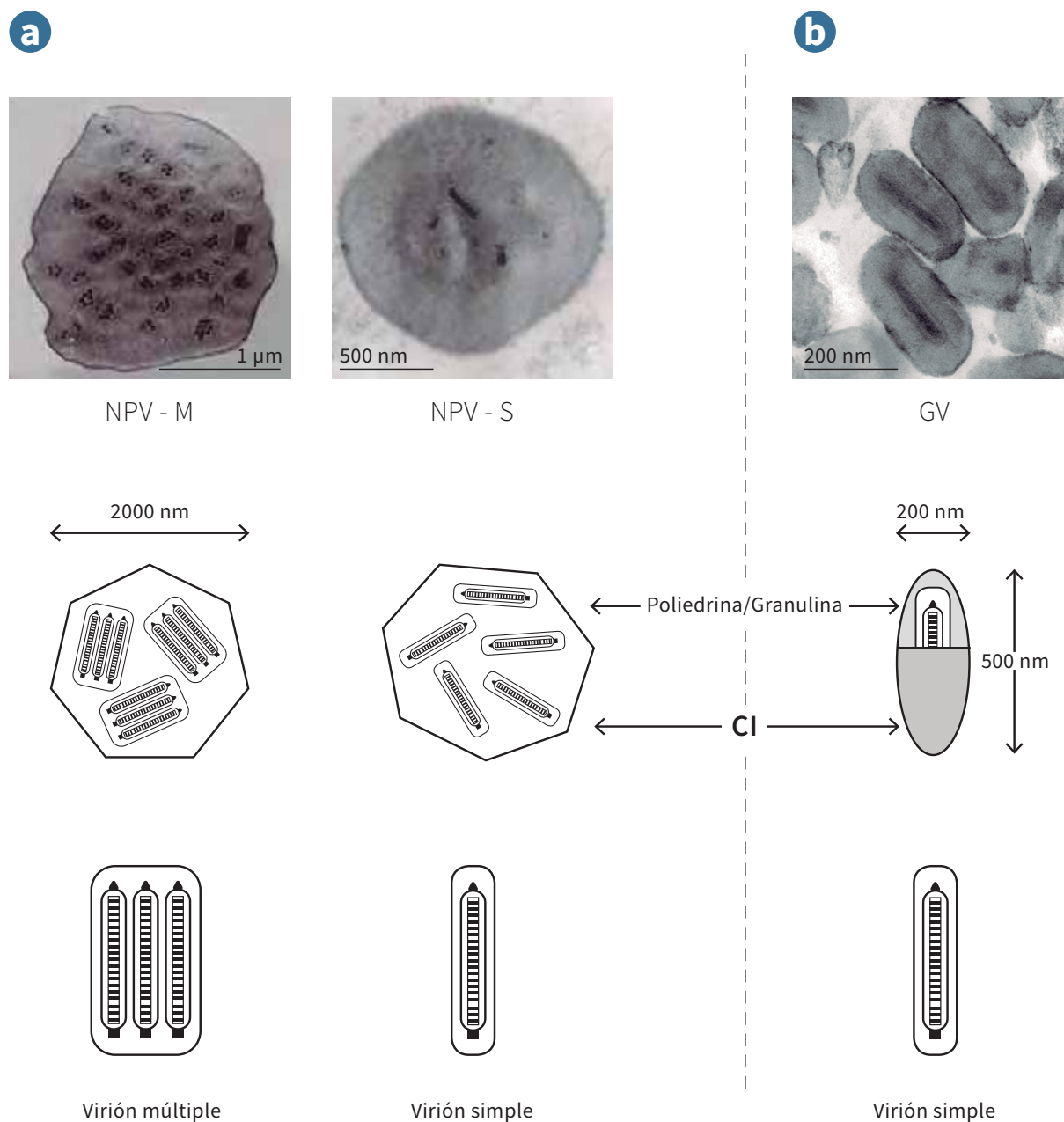


Figura 7.2. Micrografías y representación esquemática de la morfología de los cuerpos de inclusión de los géneros de la familia Baculoviridae. a. Cuerpos de inclusión de nucleopoliedrovirus; b. Cuerpos de inclusión de granulovirus.

Fuente: Barrera (2013)

La infección tipo 2, como es el caso del gv de *Cryptophlebia leucotreta*, en general, es similar a la de los NPV de lepidópteros. Este tipo de infección es más grave que la causada por el granulovirus tipo 1 y, por lo general, requiere solo de cinco a diez días para causar la muerte; después el cuerpo de la larva se licúa (Miller, 1997). El tercer tipo de enfermedad (gv tipo 3) es exclusiva del granulovirus de *Harrisia brillians* y se caracteriza por el tropismo tisular restringido al epitelio del intestino medio, la producción de viriones y cuerpos de inclusión tanto en larvas como en adultos y la muerte del insecto de cuatro a siete días después de la infección (McWilliam, 2006).

Modo de acción

El ciclo de infección de los baculovirus es un proceso complejo que involucra diferentes etapas (figura 7.3). El proceso da inicio con las partículas virales que se encuentran en el ambiente en forma de cuerpos de inclusión (CI) y son consumidas por las larvas del insecto blanco. Una vez ingeridos, los CI se disuelven en el intestino medio del insecto debido al pH alcalino (9-11) que solubiliza las proteínas y libera los virus derivados de los cuerpos de inclusión denominados ODV (debido su nombre en inglés, *occlusion derived virus*).

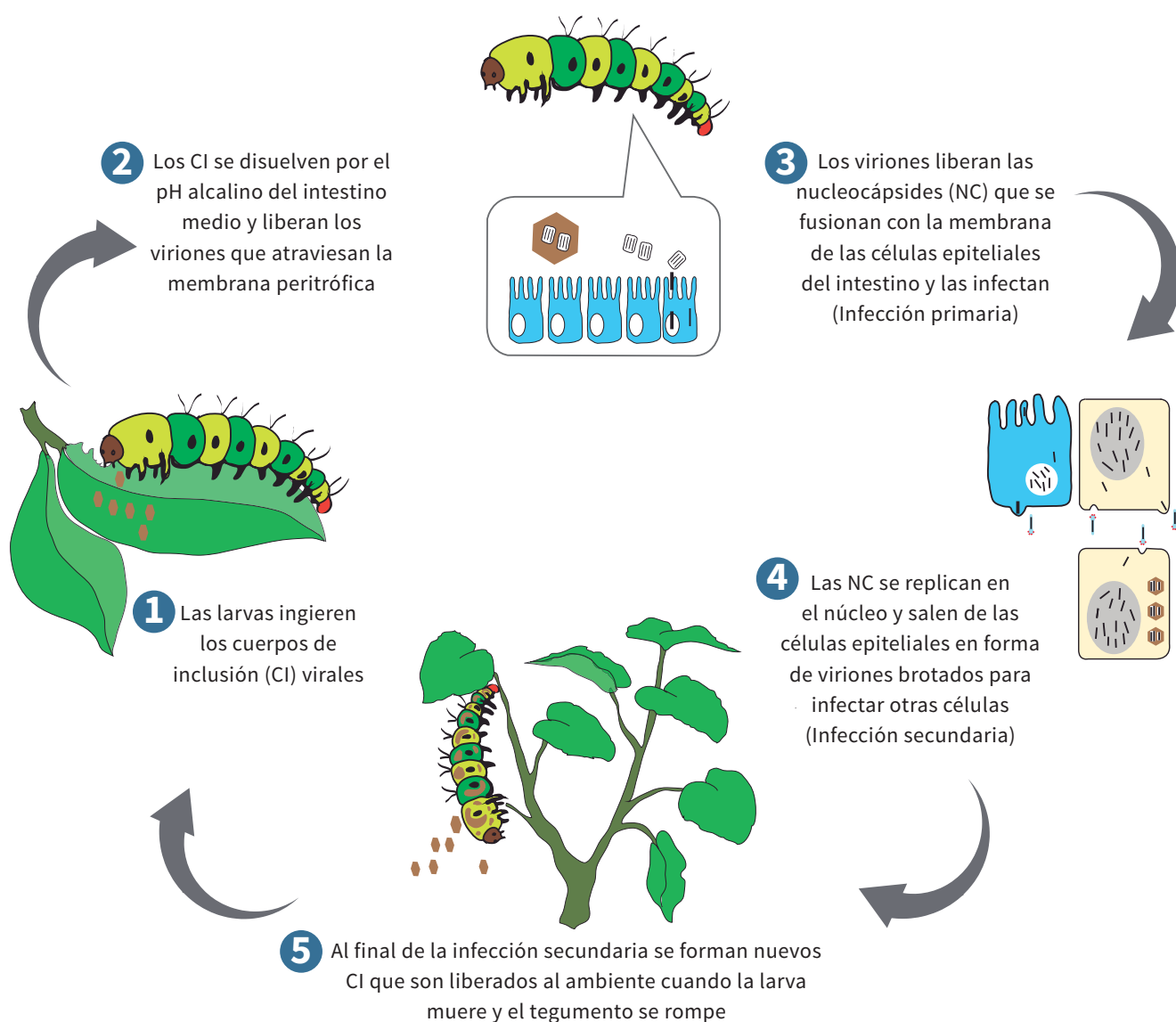


Figura 7.3. Ciclo de infección de los baculovirus.

Fuente: Elaboración propia

Posteriormente, los viriones atraviesan la membrana peritrófica del intestino y se unen por fusión a las microvellosidades de las células epiteliales del intestino medio para, de esta forma, ingresar a las células (Rohrmann, 2011).

Las nucleocápsides entran en las células, penetran en el citoplasma y se dirigen al núcleo, donde comienza la transcripción de los genes virales y se genera la nueva progenie viral. Durante este proceso se generan alteraciones fisiológicas en el insecto, las cuales favorecen el desarrollo de la infección (Caballero et al. 2001). Las nuevas nucleocápsides son después transportadas hasta la membrana celular y allí brotan al espacio extracelular, pero al atravesar la membrana celular adquieren una envoltura a partir de esta, la cual forma los viriones brotados o *budded virus* (bv). Los bv desarrollan la infección secundaria, allí los viriones

circulan por la hemolinfa infectando otros tejidos y órganos susceptibles, como los hemocitos, el cuerpo graso y la tráquea. Los estados finales de la infección se caracterizan por la oclusión o encapsulación de la nucleocápside en una matriz proteica de poliedrina o granulina que forma nuevamente los ci. Finalmente la larva muere y, dependiendo del tipo de virus, los ci pueden ser liberados al ambiente debido a la licuefacción de la larva infectada y la ruptura del tegumento, lo que da inicio a un nuevo ciclo de infección (Rohrmann, 2011).

Las larvas infectadas se tornan lentas en sus movimientos, dejan de alimentarse y se movilizan a las partes superiores de las plantas, donde mueren y pueden encontrarse pendiendo con la parte cefálica hacia abajo y adheridas de las pseudopatas anales al tejido vegetal (figura 7.4) (Ibarra & Del Rincón, 1998).



Foto: Grupo de Investigación en Control Biológico de Corpoica.

Figura 7.4. Larvas muertas por infección con baculovirus en campo. a. Larva de *Erinnyis ello* infectada con EeGV; b. Larva de *Spodoptera frugiperda* infectada con SfNPV.

La demostración de la capacidad de los baculovirus (poliedrosis nucleares y granulosis) en el control de insectos plaga data de la década de 1940, pero hubo que esperar hasta 1973, tras nueve años de experimentación, para obtener el primer producto comercial: Viron/H. Se trata del virus *Helicoverpa zea* nucleopolyhedrovirus, HzNPV (Falcon, 1976), producto que fue comercializado después bajo el nombre de ElcarTM.

Los aspectos de especificidad y seguridad de los baculovirus han sido los argumentos fundamentales que permitieron el registro de estos virus. Gröner (1986) recapitula los trabajos en este tema y concluye que los baculovirus no son ni tóxicos, ni teratogénicos, ni mutagénicos. A pesar de estas ventajas, en 1984 solo un producto comercial estaba disponible en el mercado (ElcarTM) y otros tres fueron producidos en masa por agencias del gobierno de los Estados Unidos (U. S. Forest Services) para el control de insectos plagas en bosques: *Lymantria dispar*, *Orgyia pseudotsugata* y *Neodiprion sertifer*, respectivamente.

Todos los bioinsecticidas a base de baculovirus se producen *in vivo*, en el huésped original o en huéspedes heterólogos. Se ha intentado producir baculovirus *in vitro*, en cultivos celulares, pero hay problemas de factibilidad económica (Del Rincón & Ibarra, 2011) y de producción de partículas defectivas interferentes (Giri, Feiss, Bonning, & Murhammer, 2012), que podrían asociarse con la pérdida de la capacidad de infección oral.

Hoy en día se usan insecticidas a base de baculovirus en varios agrosistemas, en superficies importantes, que sean de bosque (LdMNPV, NeseNPV), de frutales (CpGV) o cultivos de ciclo corto (PhopGV, SfMNPV) (ver ejemplos en la última parte de este capítulo).

Poxviridae

Los virus de esta familia son virus ADN de doble cadena que comprenden dos subfamilias: la Entomopoxvirinae y la Chordopoxvirinae. La primera de ellas comprende a los entomopoxvirus patógenos de insectos, que se caracterizan por formar CI ovoidales, conocidos como *esferoides*, que contienen viriones de tipo esferoide que se replican en el citoplasma de

las células infectadas y utilizan los hemocitos para diseminarse por todos los tejidos de la larva (Del Rincón, 2010). Estos CI les proveen protección de ciertas condiciones ambientales como la luz UV, el calor y la desecación, entre otros. Los CI se disuelven en el intestino medio por el pH alcalino y por la acción de proteasas, liberando las partículas infectivas que ingresan a las células intestinales por fusión y que se replican en el citoplasma de las mismas. Al final del proceso infeccioso se producen nuevas partículas virales que infectan otros tejidos susceptibles y se convierten en la fuente de nuevas infecciones (Perera, Li, Pavlik, & Arif, 2010).

Las larvas de lepidópteros con infección viral se hinchan y toman un color blancuzco o lechoso. La muerte puede ocurrir entre 10 y hasta 70 días después de haberse iniciado la infección, dependiendo de diferentes factores como el tipo de virus, la dosis, el tamaño y la edad de la larva, y la temperatura, entre otros. En coleópteros, el desarrollo de la infección puede ser aún más lento. Los EPV aislados de algunas especies de insectos plaga para los que no se han encontrado baculovirus patógenos tienen alto potencial para el desarrollo de bioplaguicidas, y su formulación sería estratégica para mejorar la virulencia y reducir el tiempo letal (Caballero & Williams, 2008).

Polydnaviridae

Los virus de la familia Polydnaviridae solo han sido aislados de especies de parasitoides braconídeos (Bracovirus) e ichneumonídeos (Ichnovirus) (ICTV, 2016). Los polidnavirus (PDV) se caracterizan por ser virus simbióticos ADN de doble cadena, de genoma segmentado (Federici & Bigot, 2003; Strand, 2010). Estos virus se encuentran integrados en el genoma de los cromosomas de la avispa y solo se separan cuando el insecto está a punto de alcanzar el estado adulto. Posteriormente, cuando las avispas inyectan los huevos con el ovopositor en el hospedero, los virus son inyectados también y desarrollan un papel importante, suprimiendo el sistema inmune para que los hemocitos (granulocitos y plasmotocitos) no encapsulen los huevos o las larvas de la avispa. Tal función se da mediante la alteración de las propiedades adhesivas de las células del sistema inmune o por la lisis de las

mismas como consecuencia de la replicación viral en su interior (Rodríguez-Pérez & Beckage, 2006).

El proceso de replicación del PDV se lleva a cabo únicamente en el ovario de la avispa. En el momento en que el parasitoide emerge del hospedero como una larva de tercer estadio, un alto número de viriones se encuentran en el núcleo de las células del cáliz del ovario. Cuando las células se rompen, los viriones son liberados en el lumen y el fluido del cáliz se llena de viriones (Rodríguez-Pérez & Beckage, 2006). Cuando la hembra del parasitoide oviposita en un insecto hospedero, el virus es transferido junto con los huevos para suprimir el sistema inmune del huésped y generar alteraciones en el crecimiento y desarrollo de este, lo que favorecen la supervivencia del huevo de la larva del parasitoide y la progenie viral se desarrolla dentro del hemocoele del hospedero (Strand, 2010). En las larvas de los hospederos infectadas con un polidnavirus se disminuye el crecimiento y se observa una alteración de las proteínas, los aminoácidos y las hormonas de la hemolinfa, así como de los procesos de melanización y encapsulación (Shelby & Webb, 1999).

Reoviridae

La familia Reoviridae está compuesta por virus ARN de doble cadena que se caracterizan por tener viriones con forma icosaédrica incluidos dentro de cuerpos de inclusión poliedrales (Renault, Stasiak, Federici, & Bigot, 2005). Los reovirus de insectos se clasifican dentro de las dos subfamilias: Sedoreovirinae y Spinareovirinae. Dentro de la subfamilia Spinareovirinae se encuentran los géneros *Cypovirus* e *Idnoreovirus*, entre otros; los primeros son los más estudiados y de mayor interés (Caballero & Williams, 2008). Los *Cypovirus*, que infectan exclusivamente lepidópteros, se caracterizan por sus partículas infecciosas, que están incluidas dentro de un CI que tiene forma poliedral similar a la de los NPV, pero se diferencian de estos porque su morfogénesis ocurre en el citoplasma y no en el núcleo de las células infectadas, por lo cual se les denomina *virus de la poliedrosis citoplasmática* (Caballero & Williams, 2008; Mori & Metcalf, 2010). Las partículas virales ingresan por vía oral e infectan células epiteliales

del intestino medio de los insectos, donde producen nuevos viriones y cuerpos de inclusión que se excretan en las heces (Renault et al., 2005). La progresión de la enfermedad puede ser bastante lenta, aunque normalmente es fatal. Además de diseminarse por las heces, se presenta contaminación de huevos o transmisión transovárica (Caballero & Williams, 2008). Entre 1956 y 1960 se utilizó un virus de poliedrosis citoplasmática (*Cypovirus*, *Reovirus*) para el control exitoso de la procesionaria del pino *Thaumetopoea pityocampa* en el Mont Ventoux (Francia). Estos ensayos fueron posibles gracias a una producción del virus en larvas sobre pinos. El virus fue formulado como polvo seco y distribuido sobre los árboles con un helicóptero (Grisson, 1969; Grison, Vago, & Maury, 1959). Después de estos trabajos no hubo más referencias hasta la publicación del trabajo de Ince, Demir, Demirbag y Nalcacioglu (2007), quienes reportaron un virus de poliedrosis citoplasmática en bosques de Turquía.

Parvoviridae (densovirus)

Los densovirus son virus no ocluidos, con ADN de cadena sencilla y viriones no envueltos de forma icosaédrica con diámetro entre 16 y 22 nm (Caballero & Williams, 2008). Los densovirus tienen una elevada virulencia e infectividad para algunas de sus especies huéspedes.

En un trabajo pionero, Kurstak, Belloncik y Brailovsky (1969) observaron cambios en las células de la línea celular L de ratón tras la infección con el densovirus de *Galleria mellonella* (L). Estas células presentaron cambios fisiológicos y presencia de antígenos. Sin embargo, a partir de este cultivo celular no fue posible obtener de nuevo la patología característica en larvas del hospedero original. Mucho más reciente, El-Far, Li, Fédière, Abol-Ela y Tijssen (2004) indicaron la ausencia de replicación en células de vertebrados por un densovirus del lepidóptero *Mythimna loreyi*. Estos trabajos modernos refuerzan la idea de una utilización sin riesgo de densovirus en el control de insectos plaga; es así como se ha propuesto el uso de densovirus para el control de mosquitos (Carlson, Suchman, & Buchatsky, 2006) y de lepidópteros (Tijssen & Bergoin, 1995).

Ejemplos de desarrollo y uso de baculovirus como bioinsecticidas

Actualmente, hay un número importante de bioplaguicidas a base de baculovirus registrados, comercializados y utilizados en todo el mundo, además de aquellos en proceso de investigación y desarrollo. En América Latina, se destacan las investigaciones y desarrollos adelantados en Colombia y Brasil, algunos de los cuales serán descritos a continuación junto con un ejemplo en Europa y Estados Unidos.

Granulovirus de *Phthorimaea operculella* para el control de la polilla guatemalteca de la papa en Colombia

La polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Povolny 1973) (Lepidoptera: Gelechiidae) es el insecto plaga de mayor impacto económico en el cultivo de papa en Colombia y otros países productores en América. La plaga es originaria de Centro América y fue descrita por primera vez en Guatemala en 1956. Posteriormente fue reportada en Costa Rica en 1970, en Panamá en 1973, en Venezuela en 1983 y en Colombia en 1985 (Vargas, Rubio, & López-Ávila, 2004). Este insecto desplaza o coexiste con la palomilla de la papa, *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae), tradicionalmente presente en este y otros cultivos. *T. solanivora* presenta un ciclo de vida holometábolo, es decir, que pasa por los estadios de huevo, larva, pupa y adulto, el cual tiene una duración de 65 a 90 días dependiendo de las condiciones ambientales (López-Ávila & Espitia-Malagón, 2000).

Las larvas del insecto forman galerías en los tubérculos que deterioran su apariencia (figura 7.5) y permiten la entrada y el desarrollo de hongos y bacterias que hacen que dichos productos no se puedan utilizar para semilla ni para consumo humano o animal. En los lugares donde se encuentra la plaga se han reportado pérdidas de hasta el 100 %, tanto en semilla almacenada como en tubérculos en campo (Villanueva & Saldamando, 2013). Sin embargo, existen aislados de granulovirus activos contra *P.*

operculella (PhopGV), con eficacias superiores al 98 % (Pérez, Puerta, Bustillo, & Madrigal, 1988), que también presentan actividad insecticida sobre la polilla guatemalteca (Cuartas, Villamizar, Espinel, & Cotes, 2009). Es así como la producción industrial de uno de estos aislados proveniente del Perú fue desarrollada por Corpoica en el 2000 para responder a la emergencia sanitaria causada por la plaga. El proceso de producción viral *in vivo* y formulación fue estandarizado y escalado en una planta piloto con capacidad de producción de siete toneladas al mes del bioplaguicida. Este fue formulado como un polvo para aplicación por vía seca y protección de tubérculos en almacenamiento, presenta una eficacia superior al 90 % (Villamizar, Zeddam, Espinel, & Cotes, 2005) y una vida útil de 24 meses a temperatura ambiente. Este producto es actualmente el único a base de baculovirus registrado ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en Colombia (ICA, 2017). La dosis de aplicación es de 2,5 kg por tonelada de tubérculos y el registro comercial permite su uso tanto para protección de semilla como de papa para consumo humano (Resolución 004921, 2011).

Posteriormente, en el 2004, Corpoica conformó una colección de granulovirus nativos aislados de larvas de *T. solanivora* colectadas en diferentes zonas productoras de papa en Colombia, los cuales estuvieran posiblemente mejor adaptados a dicho hospedero. De esta colección se seleccionó el aislado VG003 por presentar la mayor actividad biocontroladora contra *T. solanivora* (Gómez, Villamizar, Espinel, & Cotes, 2009). Este aislado viral es un variante geográfico de PhopGV que se adaptó de forma natural al nuevo hospedero (Espinel-Correal et al., 2010). Después de su caracterización biológica y molecular, este nuevo aislado colombiano fue formulado como un concentrado emulsionable (EC) para su aplicación por aspersión en condiciones de campo, utilizando también eficientes estrategias de fotoprotección frente a la radiación ultravioleta (Chaparro, Espinel, Cotes, & Villamizar, 2010); su evaluación en condiciones semicontroladas evidenció una eficacia superior al 80 % (Gómez, Moreno, Vega, Cotes, & Villamizar, 2011; Gómez et al., 2009). Una nueva formulación

en polvo mojable fue desarrollada recientemente con este aislamiento, utilizando el proceso de encapsulación desarrollado por Villamizar, Barrera, Cotes y Martínez (2010) con algunas modificaciones; este bioinsumo se encuentra actualmente en proceso de escalamiento y registro comercial en Colombia. Considerando que esta cepa también ha demostrado

patogenicidad sobre larvas del minador del tomate *Tuta absoluta* (figura 7.5) (Gómez et al., 2017) y la palomilla de la papa *P. operculella* (Espinel-Correal et al., 2010), este bioplaguicida podría tener una gran aplicabilidad en diferentes cultivos donde se encuentran independientemente o coexisten estas tres polillas plaga.

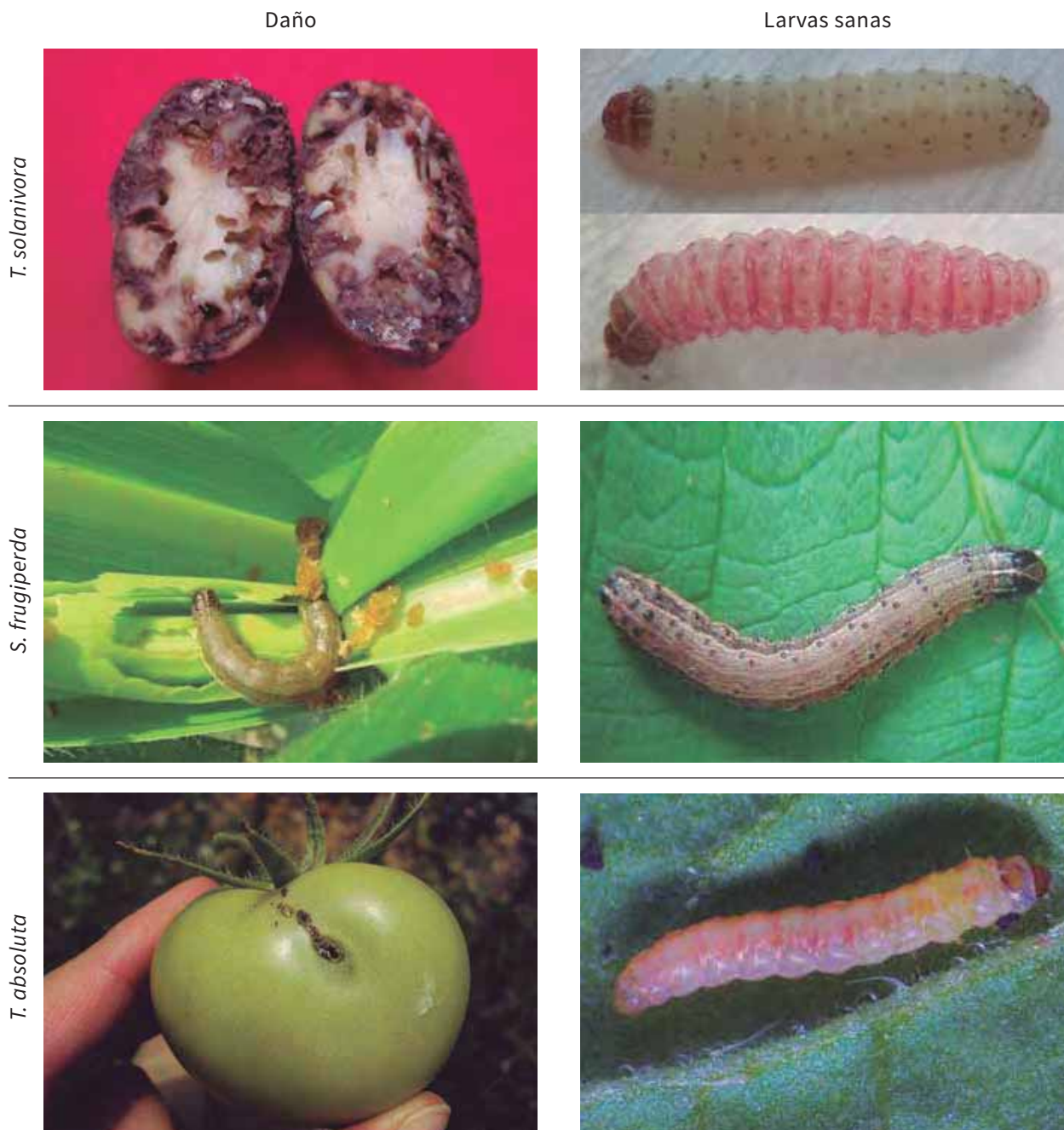


Figura 7.5. Daño causado, larvas sanas y larvas con infección viral de *T. solanivora*, *S. frugiperda* y *T. absoluta*.

Nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* para el control del gusano cogollero del maíz en Colombia

El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) es un insecto polífago de amplia distribución geográfica,

el cual ha sido reportado a nivel mundial como insecto plaga de más de 23 especies vegetales, entre las que se destacan el maíz, el sorgo, el algodón, la soya y el arroz, entre otras (García, Mosquera, Vargas, & Rojas, 2002; Zenner, Arévalo, & Mejía, 2007). Este insecto desarrolla una metamorfosis completa pasando por los estadios de huevo, larva, pupa y adulto, con normalmente seis estadios larvales y un ciclo con una duración de entre 30 y 90 días, dependiendo principalmente de la temperatura. El único estadio de la plaga que presenta importancia económica es el de larva. Las larvas de *S. frugiperda* tienen comportamiento de tierreras, cortadoras, perforadoras y cogolleras (figura 7.5), según el momento de desarrollo (Negrete & Morales, 2003). Es así como puede ocasionar la defoliación de las plantas jóvenes, retraso en el crecimiento de las plantas afectadas, disminución de la capacidad fotosintética y daño en los estigmas durante la floración, lo cual reduce la polinización, ocasiona la muerte de las plantas y causa reducciones importantes en los rendimientos del cultivo (García et al., 2002; Negrete & Morales, 2003).

Los virus de la familia Baculoviridae (baculovirus), específicamente del género *Alphabaculovirus* (nucleopoliedrovirus), han demostrado alta eficiencia y especificidad para el control de este insecto. El nucleopoliedrovirus de *S. frugiperda* (SfNPV) ha sido aislado en varios países como Estados Unidos, Nicaragua y Argentina, y ha demostrado resultados promisorios para su control (Ordóñez-García et al., 2015). En Brasil, a partir de un producto desarrollado con un aislamiento nativo de SfNPV, se aplicaron en aproximadamente 20.000 ha/año para el control de la plaga en cultivos de maíz; sin embargo, la producción que era realizada por la Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria (Embrapa) fue descontinuada por los altos costos y las dificultades tecnológicas involucradas en la producción (Moscardi, 1999; Moscardi, de Souza, de Castro, Moscardi, & Szeewczyk, 2011). Hasta el momento no existe ningún producto a base de este baculovirus registrado para el control del cogollero del maíz.

Infección viral



Fotos: Grupo de Investigación en Control Biológico de Corpoica.

En Colombia, la investigación para el uso de este virus como bioinsumo inició en el 2008 con la búsqueda de aislamientos nativos de SfNPV y su posterior desarrollo como un bioplaguicida estable ante condiciones ambientales, y eficiente para controlar la plaga en condiciones de campo. En dicho trabajo se encontraron tres aislamientos de SfNPV que fueron caracterizados morfológica, molecular y biológicamente. Se seleccionó el aislamiento NPV003 proveniente de Córdoba por ser el único en el cual se observaron larvas con sintomatología de infección viral (figura 7.5) en condiciones de campo. El análisis genómico reveló que este virus tiene 145 *open reading frames* (ORF), dos de los cuales no están presentes en los otros genotipos de SfNPV secuenciados hasta el momento y que pudieron haber sido adquiridos por un proceso de recombinación homóloga entre el NPV de *S. frugiperda* y *S. litura*, fenómeno evolutivo interesante y único en esta especie viral (Barrera, Belaich, Patarroyo, Villamizar, & Ghiringhelli, 2015).

El virus seleccionado fue formulado empleando un proceso de microencapsulación que fotoestabilizó eficientemente las partículas virales. La formulación fue evaluada en plantas de maíz bajo condiciones de casa de malla y campo en dos localidades del departamento del Meta y se seleccionaron $1,5 \times 10^{12}$ ci/ha como la concentración mínima efectiva, con una eficacia superior al 60 % para controlar la plaga (Gómez, Guevara, Cuartas, Espinel, & Villamizar, 2013). En los experimentos en campo se demostró también que la aplicación del bioplaguicida favorece la diversidad y la riqueza específica de la entomofauna benéfica asociada al cultivo, lo que tiene un efecto sinérgico en el manejo de la población del insecto plaga (Barrera Cubillos, Gómez-Valderrama, & Villamizar Rivero, 2017; Gómez et al., 2013). Actualmente este producto se encuentra en proceso de registro para su comercialización en Colombia con el nombre comercial Spobiol®, y se están desarrollando negociaciones con empresas multinacionales para su futura producción y comercialización a nivel mundial.

Granulovirus de *Erinnyis ello* para el control del gusano cachón en cultivos de caucho en Colombia

Erinnyis ello (Lepidoptera: Sphingidae) (Linnaeus, 1758) o gusano cachón es una plaga con amplia distribución en zonas tropicales y subtropicales de América. Este insecto es polífago y con un amplio rango de hospederos que incluye más de 35 especies de plantas, algunas de gran importancia económica como el tomate, el caucho, la yuca, el tabaco, la papaya y el algodón (Pratissoli, Zanúncio, Barros, & Oliveira, 2002). Es un insecto holometábolo cuyo ciclo de vida comprende desde el huevo hasta el estado adulto, con una duración de 32 a 49 días, dependiendo de las condiciones ambientales (Bellotti et al., 1989).

El gusano cachón se destaca entre los insectos plaga de mayor importancia económica para el cultivo del caucho, puesto que afecta viveros, jardines clonales y plantaciones. Por su alta capacidad de consumo, cuando hay presencia de altas poblaciones puede defoliar completamente los árboles de una plantación (Alarcón, Arévalo, Díaz, Galindo, & Rosero, 2012; León, Beltrán, Campos, & Juan, 2010). Su control se realiza principalmente mediante el uso

de insecticidas de síntesis química, con ingredientes activos como carbamatos (carbaril), organofosforados (monocrotofós), diazoles (diazinón), benzoylureas (diflubenzuron) y piretroides (deltametrina y beta-ciflutrina), de categorías toxicológicas que van desde moderadamente tóxicos (III) hasta extremadamente tóxicos (I) (Martínez et al., 2013).

Entre los organismos entomopatógenos que afectan este insecto se destaca el granulovirus de *E. ello* (EeGV), que presenta alta especificidad y virulencia contra larvas de esta plaga, con eficacias superiores al 80 % (Bellotti, Arias, & Guzmán, 1992; Gómez et al., 2016; Schmitt, 1988). En este sentido, Corpoica cuenta con un aislamiento colombiano de granulovirus de *E. ello* (EeGV VG010) (Barrera, Gómez, Cuartas, León, & Villamizar Rivero, 2014). Este aislamiento sin formular fue evaluado en cultivos de caucho, con resultados promisorios para el control de larvas de la plaga y eficacias superiores al 70 % (León et al., 2010). Al formularlo, mantuvo y mejoró las características del virus asegurando su persistencia por más de siete

días en condiciones de campo y presentó una vida útil de 15 meses sin necesidad de refrigeración. Esta formulación del virus presenta compatibilidad con los principales agroquímicos empleados en el cultivo del caucho (Gómez-Valderrama et al., 2014).

En cuanto a la actividad biológica, este bioplaguicida presenta una eficacia del 80 % sobre larvas del segundo y cuarto instar con una concentración

mínima efectiva de $6,7 \times 10^5$ CI/ml en casa de malla, en condiciones de campo en un jardín clonal y en plantación comercial (Gómez, Cuartas, Ruiz, Villamizar, & León, 2015).

Actualmente, este bioinsumo se encuentra en proceso de escalamiento y registro comercial en Colombia con el nombre de Erytec®.

Granulovirus de *Cydia pomonella* para el control de la polilla del manzano en Europa y Estados Unidos

La *Carpocapsa Cydia pomonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Tortricidae), conocida también como la “polilla de la pera y la manzana”, es la principal plaga de manzanas, peras y ocasionalmente del nogal en las regiones templadas del mundo. Este insecto barrena los frutos al punto de dejarlos inservibles para el mercado y puede alcanzar varias generaciones durante la estación (Arthurs & Lacey, 2004). Debido a que los cultivadores deben tener baja tolerancia al daño en sus cultivos (1 % de incidencia), recurren al uso rutinario de insecticidas de amplio espectro con el fin de mantener esta plaga en niveles económicos aceptables. Esto ocasiona problemas, como la obligación de mantener los periodos de carencia, la residualidad de los productos, la afectación de insectos benéficos y la aparición de resistencia (Arthurs, Lacey, & Fritts, 2005). Como alternativa biológica se ha utilizado el granulovirus de *Cydia pomonella* (CpGV), por su alta especificidad y su gran capacidad patogénica. Varios productos basados en CpGV son usados y comercializados a nivel mundial, tanto en sistemas de producción biológicos como dentro del manejo integrado de este insecto. Se estima que se ha utilizado en más de 100.000 hectáreas en Europa, pero también es ampliamente usado en Estados Unidos, Canadá y Australia (Eberle & Jehle, 2006). Sin embargo, en el 2003 se observó que el CpGV estaba fallando para controlar el daño en manzana, y comenzó a sospecharse resistencia en Alemania

y en Francia, y luego en Italia, Holanda y Suiza (Asser-Kaiser et al., 2007). Este fue el primer caso de resistencia de un insecto a un virus observado en poblaciones de campo, y se convirtió en un asunto de gran importancia debido a la capacidad de dispersión de poblaciones resistentes en los cultivos europeos. El primer aislamiento de CpGV fue encontrado en México (CpGV-M) y todas las formulaciones utilizadas en Europa se derivan de este, lo que puede facilitar la generación de resistencia debido a la baja variabilidad genotípica (Berling et al., 2009). Bajo condiciones controladas, se han encontrado poblaciones de la *Carpocapsa* desde 100 a 60.000 veces más resistentes (Asser-Kaiser et al., 2007; Berling et al., 2009). Hay casos de cultivos que han recibido aplicaciones de CpGV por 20 años y no han generado resistencia en las poblaciones de insectos, mientras que, en cultivos tratados con el virus por pocos años, se evidenciaron poblaciones con bajas susceptibilidades al entomopatógeno. Las causas de esta disparidad de respuesta no han sido establecidas (Eberle & Jehle, 2006). Esta resistencia es monogénica, dominante y ligada al sexo. Además, es específica para el genotipo contenido en el CpGV-M, lo cual quiere decir que los insectos resistentes pueden ser controlados por otros genotipos del CpGV (Asser-Kaiser et al., 2007; Berling et al., 2009). Actualmente, varios productos que contienen otros variantes genotípicos de CpGV han sido homologados.

Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* para el control de la oruga de las leguminosas en Brasil

La oruga de las leguminosas *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) es el principal insecto defoliador de la soja y se encuentra distribuido desde el norte de Argentina hasta el sudoeste de los Estados Unidos (Sosa-Gómez, Moscardi, Santos, Alves, & Alves, 2008). En Brasil acostumbra atacar los cultivos a partir de noviembre en las regiones del norte de Paraná y en diciembre y enero al sur del país, y puede causar un 100 % de defoliación (Hoffmann-Campo et al., 2000). En Brasil es la responsable de la mayor cantidad de insecticidas químicos aplicados anualmente (Moscardi, 1989), y se requiere un promedio de dos aplicaciones de insecticidas químicos por cosecha en 20 millones de hectáreas aproximadamente. Esto ocasionaba desequilibrios importantes debido a la reducción de enemigos naturales, lo cual permite la resurgencia de esta plaga o la ocurrencia de plagas secundarias. Esto sin mencionar las afectaciones ambientales o de salud que podía ocasionar el uso indiscriminado de insecticidas de amplio espectro (Sosa-Gómez et al., 2008).

Una opción exitosa para el manejo de este insecto fue el uso del nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV), que es un ejemplo de la interacción entre las instituciones oficiales, la empresa privada y los agricultores. El programa fue implementado en Brasil por Embrapa Soja, a comienzos de la década de los ochenta, a partir de un aislamiento de AgMNPV proveniente de Londrina (Paraná) en 1979 (Moscardi, 1989). Este programa fue implementado conjuntamente con agricultores, y se trataron inicialmente 2.000 hectáreas de soja a nivel de parcelas demostrativas y producción viral en el campo como inóculo necesario para la aplicación en otras parcelas durante el mismo periodo o subsecuentes periodos de siembra (Szewczyk, Hoyos-Carvajal, Paluszek, Skrzecz, De Souza, 2006). El programa se llevó a cabo entre 1982 y 1983 en fincas de productores de Paraná y Rio Grande do Sul y se expandió progresivamente hasta llegar a utilizarse en un millón de hectáreas en el periodo 1989-1990, abarcando otros estados (Sosa-Gómez et al. 2008; Szewczyk et al. 2006). En su fase inicial, el virus

era aplicado luego de la maceración y la filtración de larvas mantenidas en colonias con dieta artificial, pero a partir de 1986 se desarrolló una formulación del entomopatógeno consistente en un polvo mojable (wp). A inicios de la década de 1990, Embrapa Soja estableció contratos con cinco empresas privadas para la producción y la comercialización del bioinsecticida (Sosa-Gómez et al., 2008).

El método de producción viral varió, ya que se hizo en su totalidad colectando larvas muertas en campo luego de una aplicación de 3×10^{11} CI/ha (el doble de la concentración recomendada). En un solo lugar se podían colectar 600 kg de larvas muertas empleando de 200 a 300 operarios por día. Esta producción en campo podía obtener de 13 a 45 toneladas por año, suficientes para tratar de 650.000 a dos millones de hectáreas (Sosa-Gómez et al., 2008) y convertirse en un negocio rentable, dado que se producían grandes cantidades a bajo costo, (entre un 20 y un 30 % menos que el promedio de insecticidas químicos). Además, proporciona un control efectivo con una aplicación por temporada, mientras que el método químico utiliza dos (Szewczyk et al., 2006).

Aunque para la temporada 2004-2005 el producto fue elaborado y comercializado para el tratamiento de dos millones de hectáreas (10 % del área cultivada en Brasil), el método de producción y colecta en campo debía tener algunas precauciones, como, por ejemplo, cuidar que la colecta fuera solo de larvas con signos y síntomas virales, no colectar larvas de otras especies ni que estuvieran infectadas por hongos entomopatógenos, como *Metarhizium rileyi*. Además, el material colectado se debía congelar a -10°C con el fin de evitar la proliferación de bacterias saprofitas u otros contaminantes o el rompimiento del tejido como característica propia de la mayoría de NPV (Sosa-Gómez et al., 2008).

Como método de producción masiva en campo abierto, se enfrentaron diferentes retos como que la incidencia anual de los insectos fuera variable en función de factores bióticos y abióticos, con una consecuente variabilidad en la producción y dificultad

en la planificación de una producción continua; esto además de la variabilidad en la calidad del material colectado, que depende del método de colecta y del tratamiento poscolecta (Sosa-Gómez et al., 2008). Posteriormente, la empresa Codetec implementó la producción de este virus con capacidad para tratar hasta dos millones de hectáreas al año. Sin embargo, la

producción se discontinuó debido a la baja demanda del producto ocasionada por la masiva adopción, por parte de los agricultores, de paquetes comerciales que combinan insecticidas y herbicidas químicos. Es así como en el 2014 solamente se aplicó este bioplaguicida viral en 200.000 ha (Haase, Sciocco-Cap, & Romanowski, 2015).

Productos en el mercado

Existe un número importante de productos comerciales a base de baculovirus, varios de los cuales han

sido exitosamente implementados en programas de manejo integrado de plagas (tabla 7.2).

Tabla 7.2. Ejemplo de productos a base de baculovirus registrados y comercializados a nivel mundial

Virus	Nombre comercial	Empresa (país)	Plaga blanco
SeNPV	Spod-X	Certis (USA)	<i>Spodoptera exigua</i>
LdNPV	Gypcheck	U. S. Forest Service (USA)	<i>Lymantria dispar</i>
HzNPV	Gemstar	Certis (USA)	<i>Helicoverpa zea</i> y <i>Heliothis virescens</i>
OpMNPV	TM Biocontrol-1	(Estados Unidos)	<i>Orgyia pseudotsugata</i>
AcMNPV	SAN 404	(Estados Unidos)	<i>Autographa californica</i>
SpliNPV	Spodopterin	(Francia)	<i>Spodoptera littoralis</i>
CpGV	Granupom	Biobest (Bélgica)	<i>Cydia pomonella</i>
CpGV	Carpovirus Plus	NPP-Arysta Life Science (Francia)	<i>Cydia pomonella</i>
SeNPV	SPOD-X LC	Certis (USA) y Summit Agro (México)	<i>Spodoptera exigua</i>
PhoGV	PTM-Baculovirus	CIP (Perú)	<i>Phthorimaea operculella</i>
HearNPV	Helicovex	Andermatt (Suiza)	<i>Helicoverpa armigera</i> , <i>H. zea</i> , <i>H. virescens</i> y <i>H. punctigera</i>
CpGV	Madex Twin	Andermatt (Suiza)	<i>Grapholita molesta</i> , <i>Cydia pomonella</i>
SeNPV	Spexit	Andermatt (Suiza)	<i>Spodoptera exigua</i>
SpliNPV	Littovir	Andermatt (Suiza)	<i>Spodoptera littoralis</i>
GV	Baculovirus Corpoica	Corpoica (Colombia)	<i>Tecia solanivora</i>

Fuente: Elaboración propia con base en Haase et al. (2015); Pesticideinfo (2018) y Andermatt Biocontrol (s. f.)

Estrategias de potenciación para mejorar la actividad biocontroladora de los baculovirus

Los baculovirus son los virus entomopatógenos con mayor desarrollo como bioplaguicidas; sin embargo, su inclusión exitosa en sistemas de manejo integrado de plagas depende de la combinación de varios factores, entre ellos su capacidad insecticida. Algunas desventajas de los bioplaguicidas a base de baculovirus están asociadas directamente con la biología del virus, como su baja velocidad de acción y otras, que incluyen los altos costos de producción (Battu, Arora, & Dhaliwal, 2002).

Un enfoque para solventar estos inconvenientes es el mejoramiento de las características insecticidas del virus mediante su potenciación con diferentes estrategias. La potenciación se define como una técnica química o biológica que permite mejorar la actividad insecticida de un baculovirus, aumentando la susceptibilidad de su hospedero y disminuyendo su tiempo de supervivencia (Caballero et al., 2001; Szewczyk et al., 2006). La estrategia convencional incluye la selección de cepas con mayor potencial insecticida, de las cuales se conocen variantes virales con mutaciones naturales que proveen características especiales. Un ejemplo de ello es el SfMNPV, para el que algunos aislamientos muestran un reducido tiempo letal; sin embargo, presentan inconvenientes por la baja producción de partículas virales (Behle & Popham, 2012). Otros aislamientos de este virus no producen la licuefacción de las larvas infectadas (Valicente et al., 2008), lo cual es deseable porque facilita el proceso de producción masiva y de cosecha del virus, pero se reduce la posibilidad de diseminación natural en el campo.

El uso de agentes sinergistas puede aumentar la infectividad oral de los virus y reducir la cantidad necesaria para aplicar por unidad de área. Esto podría disminuir los costos y promover el uso de los baculovirus en programas de manejo integrado de plagas.

Dentro de las estrategias basadas en la adición de potenciadores químicos a los bioplaguicidas virales, se ha descrito que los blanqueadores ópticos (Phorwite AR, Leucophor BS, Tinopal LPW y Blankophor

RKH, etc.), además de actuar como absorbentes de la luz ultravioleta, pueden ser potentes sinergistas de los nucleopoliedrovirus (Martínez, Simón, Williams, & Caballero, 2003; Okuno et al., 2003; Shapiro, El Salamouny, & Merle Shepard, 2008). Los abrillantadores inhiben el desprendimiento de las células infectadas del intestino medio e inhiben la respuesta apoptótica de las mismas (Dougherty, Narang, Loeb, Lynn, & Shapiro, 2006), lo que aumenta la probabilidad de establecimiento de la infección primaria. Esos compuestos también inhiben la síntesis de quitina y aumentan dramáticamente la porosidad de la membrana peritrofica, lo que facilita el movimiento de los viriones derivados de la oclusión desde el lumen del intestino hasta las células epiteliales (Zhu, Liu, Peng, Yang, Hong, 2007). Varios estudios han demostrado que los abrillantadores incrementan la actividad insecticida de los aislamientos en condiciones de laboratorio (Shapiro et al., 2008) y en cultivo (Bernal, Simón, Williams, & Caballero, 2014; Lasa et al., 2007). Además, se ha demostrado que el efecto sinergista de estos compuestos permite que los aislamientos virales puedan infectar especies de insectos semipermissivas y biotipos resistentes (Morales, Moscardi, Sosa-Gómez, Paro, & Soldorio, 2001).

Por otra parte, se ha encontrado que sustancias como el ácido bórico y el ácido sórbico tienen un efecto potenciador de los baculovirus en laboratorio y en campo (Bell, Owens, Shapiro, Tardif, 1981; Cisneros et al., 2002). Las bajas concentraciones mejoran hasta 11 veces la actividad insecticida de aislamientos de NPV de *L. dispar* y *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae), y también disminuyen el tiempo medio de muerte (TMM) hasta en 56 horas. Aunque su modo de acción aún no ha sido establecido, se cree que actúan como factores de estrés fisiológico para el insecto, incrementando así su susceptibilidad a los entomopatógenos (Cisneros et al., 2002; Szewczyk, Rabalski, Krol, Sihler, & Lobo de Souza, 2009).

En ese mismo sentido, para incrementar la susceptibilidad a la infección por NPV de larvas de *Bombyx mori* también se han probado sustancias

químicas comerciales para uso agrícola que inhiben la síntesis de quitina, como polyoxin AL y orthocide (fungicidas) o flufenoxuron (Arakawa, 2003; Arakawa, Furuta, Miyazawa, & Kato, 2002). A pesar de los beneficios descritos, se ha demostrado que algunos potenciadores tienen efectos nocivos, por ejemplo, que afectan los polinizadores, lo cual sugiere la necesidad de estudios más profundos sobre los posibles efectos secundarios de los candidatos, especialmente si se trata de químicos estables (Goulson, Martínez, Hughes, & Williams, 2000).

En general, los agentes sinergistas naturales son menos perjudiciales para el medio ambiente que los compuestos sintéticos por su baja característica residual y su factibilidad de uso en producciones orgánicas. Por ello se han planteado alternativas que utilizan compuestos provenientes de extractos de plantas, proteínas derivadas de otros virus o la coinfección para potencializar la actividad de los NPV. La adición de azadirachtina tetranortriterpeno (AZA1), ingrediente activo de la planta *Azadirachta indica* A. Juss, conocida como *nim* (*neem* en inglés), ha demostrado tener un efecto sinérgico sobre la nucleopoliedrovirus para infectar *Spodoptera litura*, *Lymantria dispar*, *Helicoverpa armigera* y *Pieris brassicae* (Bhandari, Sood, Mehta, Choudhary, & Prabhakar, 2009; Senthil, Murugan, & Zhang, 2008; Senthil & Kalaivani, 2005). AZA1 actúa como represor de la alimentación y regulador de crecimiento, aumentando así la susceptibilidad a la infección (Schmutterer, 1990).

Otras iniciativas para la potenciación de NPV utilizan proteínas como la fusolina, que es el principal componente de los cuerpos de inclusión producidos por los entomopoxvirus (EPV), y su modo de acción se basa en la disrupción de la membrana peritrófica (Mitsunaga, 2009). En este aspecto, se ha reportado la potenciación de infectividad de NPV de *P. unipuncta* (PuNPV) sobre larvas de *P. separata* utilizando esferoides de entomopoxvirus de *P. separata* (PsEPV) (Xu & Hukuhara, 1992) y de NPV de *B. mori* (BmNPV) sobre larvas de *B. mori* utilizando proteínas del EPV de *Anomala cuprea* (AcEPV) (Mitsunaga & Sato, 2000).

Mukawa y Goto (2007, 2010, 2011) reportaron el uso de proteínas alcalinas solubles de cápsulas (GV) derivadas del granulovirus de *Xestia c-nigrum* como

potenciadoras de la actividad de NPV de *Mamestra brassicae* (MabrNPV) sobre larvas de *Helicoverpa armigera*, *Mamestra brassicae* y *Autographa nigrisigna*. Trabajos posteriores, realizados en cultivos de repollo y brócoli, demuestran resultados promisorios de las GV para ser utilizadas como aditivos del bioplaguicida a base de MabrNPV (Goto, Mukawa, & Mitsunaga, 2015).

Las características potenciadoras de los GV se han atribuido a una proteína denominada *enhancina*, la cual actúa como una metaloproteínasa que degrada las proteínas de la matriz peritrófica alterando su continuidad (Derksen & Granados, 1988); además existe evidencia de que la enhancina incrementa la fusión de las envolturas virales con las membranas de las células del intestino medio (Kozuma & Hukuhara, 1994). Esto permite el ingreso rápido de las partículas virales a las células, lo cual reduce el tiempo de mortalidad y aumenta la patogenicidad viral (Hoover, Humphries, Gendron, & Slavicek, 2010; Mukawa & Goto, 2010, 2011). Esta proteína corresponde al 5 % de las proteínas presentes en el cuerpo de inclusión y se conoce como "factor sinérgico de la infección viral" (Lepore, Roelvink, & Granados, 1996).

La potenciación con el uso de coinfección entre dos aislamientos virales diferentes ha sido demostrada en diferentes trabajos. Este proceso se puede dar específicamente para los nucleopoliedrovirus a través de interacciones indirectas de tipo ayuda que dependen de la infección simultánea con genotipos virales completos y defectivos en el mismo hospedero. (Cuartas & Villamizar, 2011; López-Ferber, Simón, Williams, & Caballero, 2003). También hay otras interacciones indirectas, como las que ocasionan un cambio en la susceptibilidad del hospedero por alteración de las barreras físicas debido a la acción de proteasas como la proteína enhancina y que se ha presentado en la mayoría de los casos de potenciación con granulovirus (Guo, Fang, Wang, Zhong, & Liu, 2007); y las interacciones que ocasionan cambios citopáticos en las células hospederas (Cuartas & Villamizar, 2011; Hukuhara & Wijonarko, 2001).

La primera evidencia de potenciación de un NPV por un GV fue encontrada por Tanada (1959a, 1959b) en larvas de *Pseudaletia unipuncta* (Haworth, 1809) (Lepidoptera: Noctuidae), y desde entonces se

han desarrollado diversos trabajos que confirman estas interacciones (Slavicek, 2012). Por ejemplo, la coinfección entre MNPV de *L. dispar* y gv de *H. armigera* potenció la actividad insecticida (300 veces) y el tiempo de mortalidad (18%) sobre larvas de *L. dispar* y la coinfección con gv de *S. frugiperda* aumentó la patogenicidad 13 veces (Hoover et al., 2010; Shapiro, 2000). Otros trabajos reportan potenciación de NPV de *Mamestra brassicae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Noctuidae) con el gv de *Xestia c-nigrum* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Noctuidae) en larvas de *M. brassicae* (Mukawa & Goto, 2007, 2010). En larvas de *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) también se ha evidenciado el efecto potenciador de este gv al ser coinfectado con el NPV de *S. litura* (Guo et al., 2007). Se han publicado trabajos sobre coinfección que demuestran que el granulovirus de *Epinotia aporema* (EpapGV) incrementa la potencia del nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatilis* (AgMNPV), lo cual sugiere que las formulaciones con los dos virus pueden ser una herramienta valiosa para su inclusión en sistemas de manejo integrado de plagas (Biedma, Salvador, Ferrelli, Sciocco-Cap, & Romanowski, 2015).

Otros virus, como los iflavirus, también han sido probados para potenciar la actividad insecticida del NPV de *S. exigua* y presentaron una reducción de la

concentración letal media del virus, aunque no se observó efecto en el tiempo medio letal (Carballo et al., 2017).

La estrategia de utilizar la coinfección de dos aislamientos virales potencia la actividad insecticida de un agente viral; sin embargo, la multiplicación de dos ingredientes activos eleva los costos de producción de un bioplaguicida. Debido a ello se han estudiado estrategias que emplean herramientas de la ingeniería genética para introducir los genes de las proteínas potenciadoras dentro de los genomas de los virus utilizados para el control. Las herramientas de modificación genética han sido aplicadas por más de 20 años para ampliar el rango de hospederos, aumentar la actividad insecticida e inclusive para proveer fotoestabilidad. Algunos trabajos están dirigidos a la expresión de efectores fisiológicos (hormonas y enzimas) para interrumpir el metabolismo normal del insecto, la expresión de toxinas específicas o eliminar genes que modifican el comportamiento viral (Arora & Shera, 2014). A pesar de las innumerables investigaciones sobre estrategias genéticas para mejorar el desempeño viral en los bioplaguicidas, no existen en el mercado productos recombinantes con desempeño mejorado y no se avizoran en el futuro cercano, debido a la opinión desfavorable de los consumidores y las barreras regulatorias en mercados potenciales como la Unión Europea (Lacey et al., 2015).

Limitantes para la producción y el uso de virus entomopatógenos

Limitantes de diferente tipo se presentan para la producción masiva de los virus entomopatógenos, principalmente relacionadas con su característica de ser patógenos obligados y de necesitar las células hospederas para su producción. Además, dependiendo del tipo de virus (estructura y ácido nucleico), estos pueden ser inactivados por condiciones ambientales que limitan su utilización en campo para el control de insectos plaga, por lo que deben tener una formulación adecuada y eficiente que los proteja de dichas condiciones. A continuación, se describen y analizan con más detalle los factores y efectos asociados a las limitantes en mención.

Limitantes ambientales

La *persistencia viral* es el término que describe la capacidad de un virus para mantener su infectividad en un escenario determinado. La persistencia de los virus, así como la de otros agentes microbianos de control biológico en el medio ambiente, se ve influenciada por factores abióticos como la temperatura, la humedad y la radiación solar, entre otros, y podrían persistir desde horas hasta décadas dependiendo de su estructura y de las condiciones ambientales (Bosch, Pintó & Abad, 2006). Son numerosos los factores químicos,

físicos y biológicos que determinan la persistencia o estabilidad de los virus en el ambiente, y los más importantes se resumen en la tabla 7.3.

Por ejemplo, algunas investigaciones de campo han demostrado que la persistencia de los virus en los sistemas acuáticos y terrestres es mayor cuando el virus se asocia con partículas inorgánicas de origen natural, tales como la arcilla y los sedimentos (Nazir, Haumacher, Ike, & Marschang, 2011). Los mecanismos por los cuales la materia orgánica influye en la adsorción del virus a las partículas no están bien definidos, probablemente porque en la mayoría de los estudios se han utilizado productos orgánicos heterogéneos (por ejemplo, las aguas residuales) o compuestos orgánicos con propiedades biofísicas. Sin

embargo, los resultados de estos estudios indican que, en el caso de los reovirus, la persistencia puede variar según el tipo de materia orgánica y mineral de la arcilla con la que el virus entra en contacto (Lipsont & Stotzky, 1984).

Los cypovirus y los baculovirus son notoriamente difíciles de erradicar porque las partículas virales están incrustadas en cristales de proteínas o cuerpos de inclusión y la notable estabilidad de los CI significa que, al igual que las esporas bacterianas, los virus de los insectos pueden seguir siendo infecciosos durante algún tiempo en reservorios como el suelo (Coulibaly et al., 2007). Los factores ambientales más limitantes para la persistencia viral son la temperatura y la radiación ultravioleta, como se detalla a continuación.

Tabla 7.3. Principales factores ambientales que afectan la persistencia viral

Tipo de factores	Factor	Efecto
Físicos	Temperatura	Las altas temperaturas causan inactivación viral
	Luz	La luz ultravioleta causa inactivación directamente proporcional al tiempo de irradiación
	Desecación	La deshidratación puede inducir inactivación de algunos virus
	Presión	La alta presión puede inducir inactivación
Químicos	pH	Los valores extremos de pH causan inactivación viral
	Salinidad	Las concentraciones altas de sales en medio acuoso causan inactivación viral
	Amonio	Actividad viricida
	Iones inorgánicos	Algunos son viricidas
	Materia orgánica	La adsorción a materia orgánica puede reducir la inactivación viral
	Enzimas	Las proteasas y las nucleasas contribuyen a la inactivación viral
Biológicos	Actividad microbiana	Contribuye a la inactivación
	Biopelículas	La adsorción a biopelículas puede reducir la inactivación, pero la actividad microbiana en la biopelícula puede ser viricida
	Tipo de virus	La estabilidad de la partícula viral depende de la estructura viral, la especie, e incluso de la cepa

Fuente: Elaboración propia con base en Bosch et al. (2006)

En los granulovirus, así como en la mayoría de los virus, la partícula infectiva no contiene nada más que un genoma. En este caso, para obtener una diversidad genotípica en la larva hay que considerar una ingestión múltiple, pero ¿cuál es la frecuencia de estas infecciones múltiples en condiciones naturales? En la literatura solo hay datos de un aislado de CpGV, I68, obtenido de una sola larva, y que presenta una diversidad genética (Rezapanah et al., 2008).

Sin embargo, Espinel-Correal et al. (2010) también encontraron, con las polillas de la papa, que en zonas en las cuales hay una sustitución periódica del insecto huésped la población viral está compuesta mayoritariamente de dos genotipos, cada uno adaptado a uno de los huéspedes, y que los dos se transmiten, lo cual implica una coinfección, al menos en algunas larvas.

La importancia de este punto para la definición de las estrategias de control biológico reside en la garantía de la perennidad, es decir, la ausencia de aparición de resistencias o, más bien, la ausencia de sobrevivientes. En la carrera de armamentos entre las poblaciones virales y las poblaciones de insectos que los albergan, el pseudoequilibrio será alcanzado cuando el costo de defenderse por parte del insecto no compense la pérdida de eficacia biológica (Combes, 2001). Desde la perspectiva del virus, este equilibrio será alcanzado cuando el costo del desarrollo de nuevas estrategias de infección no compense las ganancias en capacidad de transmisión (es decir, generación de descendencia y persistencia a lo largo del tiempo).

Supongamos que cada genotipo viral ataca a su insecto huésped de una forma ligeramente diferente. Apliquemos una metáfora para explicar nuestro propósito. Cada genotipo viral ataca al huésped como cada viajero sigue una ruta para ir de un sitio A hacia un sitio B en una ciudad. Todos los viajeros no seguirán exactamente la misma ruta; los puntos neurálgicos son aquellos por los que necesariamente todos los viajeros deban pasar. Cualquier gestor de tráfico sabe que estos puntos deben ser reforzados y vigilados para evitar colapsos de tráfico. Este sería el caso de una resistencia generalizada a todos los genotipos virales. Para evitar este escollo, el virus empleará los sistemas más seguros posibles, aunque esto conlleve un costo importante. La infección por un baculovirus depende de la capacidad de este virus para colonizar las células del intestino medio. Hasta hoy se han descrito ocho proteínas *per os infectivity factor* (PIF) que actúan de forma coordinada para asegurar esta entrada (Song et al., 2016). El paso de esta etapa es, ciertamente, un punto neurálgico. El bloqueo de una calle que no sea común tendrá como consecuencia la imposibilidad de infección con un genotipo, pero no con los otros. Si hay infección múltiple, la larva morirá de todas formas.

En un trabajo reciente, Erez et al. (2017) demostraron que en poblaciones virales de bacteriófagos se desarrollan estrategias de grupo. Estas estrategias son posibles gracias a la existencia de sistemas de comunicación entre virus que infectan bacterias diferentes. Físicamente, estos sistemas consisten en pequeñas proteínas codificadas por el virus que son secretadas al medio. La concentración de estas proteínas indica la frecuencia de células infectadas, en un sistema similar al *quorum sensing* (Nealson & Hastings, 1979). El resultado es una coordinación en la respuesta a nivel de la población viral que maximiza la probabilidad de supervivencia de esta población (y no la probabilidad de supervivencia de cada bacteriófago aislado). Las variaciones entre estrategias de transmisión, de infecciones con bajo nivel de mortalidad (infecciones latentes, persistentes, transmisión vertical) hacia infecciones francas, que producen altos niveles de mortalidad o morbilidad, podrían deberse también a este tipo de acción de grupo.

Conclusiones y perspectivas

El uso de virus como agentes de control de las poblaciones de insectos plaga, en su origen, fue formulado como un método para establecer equilibrios ecológicos. Sin embargo, progresivamente este concepto evolucionó hacia el desarrollo y la producción de bioinsecticidas, como productos alternativos para remplazar a los insecticidas químicos.

El principio subyacente de un insecticida químico es la existencia de una o varias moléculas perfectamente definidas, y que son siempre las mismas en el producto. El control de calidad verifica que la composición es fija tanto en los componentes como en sus proporciones. La consecuencia de este paradigma es que las poblaciones blanco son sometidas a una presión de selección fija, y que, con velocidades variables en función de la complejidad de la preparación, aparecerán fenómenos de resistencia.

La aparición de resistencias en campo contra el granulovirus de *Cydia pomonella* CpGV (Fritsch, Undorf-Spahn, Kienzle, Zebitz, & Huber, 2005; Sauphanor et al., 2006) y la obtención de aislados virales capaces de sobrepasar esta resistencia (Berling et al., 2009; Rezapanah, Shojai-Estabragh, Huber, & Jehle, 2008) muestran que las poblaciones virales pueden adaptarse rápidamente, pero que la reacción del huésped es inevitable. Así, un segundo tipo de resistencia ha sido descrito (Jehle, Schulze-Bopp, Undorf-Spahn, & Fritsch, 2017), así como una variabilidad en la sensibilidad (Berling, Sauphanor, Bonhomme, Siegwart, & Lopez Ferber, 2013). Para controlar esta reacción, la estrategia usual es la rotación entre productos (que deriva del paradigma de los insecticidas químicos o de los antibióticos). Sin embargo, puede proponerse un paradigma alternativo basándose en el funcionamiento de las poblaciones virales.

En las poblaciones naturales de los virus de poliedrosis nucleares se ha observado una gran variabilidad genética, pero, a pesar de que la eficacia de diversos genotipos ha sido estudiada desde hace tiempo (Lewis, 1981), el análisis de la función de esta variabilidad es relativamente reciente (López-Ferber et al., 2003) y se ha observado que la asociación de varios genotipos en la misma población aumenta la eficacia en esta población. En un trabajo posterior, Simón, Williams, López-Ferber y Caballero (2005) encontraron un resultado sorprendente: las características de la población para varios parámetros de eficacia no corresponden a la media de las características de cada uno de los componentes, sino que corresponden, unas veces, a uno de los genotipos, no necesariamente mayoritario, y otras veces son diferentes de las de cada uno. Esto quiere decir que el comportamiento de la población no se puede predecir a partir de las características de cada uno de los genotipos que la componen. También se ha demostrado que, en los NPV, cada poliedro transporta varios genotipos. De esta forma se asegura que una larva que haya ingerido un solo poliedro tendrá una representación de la diversidad genotípica de la población.

Temperatura

El efecto del calor sobre los virus depende del tiempo de exposición y de la temperatura que provoca desnaturalización de proteínas, fusión y desorganización de las membranas o procesos oxidantes irreversibles. El efecto de la temperatura también se ve influenciado por la presencia de humedad y es mayor en presencia de agua, ya que esta permite que se altere con mayor facilidad la configuración de las proteínas y proporciona un medio para distribuir el calor uniformemente (Romero, 2007).

Las temperaturas exageradamente elevadas pueden inactivar a los virus antes de que estos alcancen su hospedero, además aceleran la muerte del insecto infectado, disminuyendo la productividad del virus y, de esta forma, el inóculo disponible para infectar otros individuos (Caballero et al., 2001).

Por ejemplo, en el trabajo de Marina, Feliciano, Valle y Williams (2000) se determinó que la dosis infectiva media (DI₅₀) de un virus iridiscente de invertebrados aislado de *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae) presentó una disminución constante de la infectividad en el tiempo cuando fue expuesto a temperaturas entre 4 y 25 °C durante 50 días. La tasa de inactivación aumentó con el incremento de la temperatura. Cincuenta días después del inicio del experimento, la infectividad de las preparaciones de virus expuestas a 25 °C disminuyó aproximadamente un orden de magnitud.

Radiación ultravioleta

La región del espectro solar comprendida entre 100 y 400 nm corresponde a la radiación ultravioleta (UV), que juega un papel determinante en la vida de los microorganismos y se divide en tres tipos: UVA (400-320 nm), UVB (320-290) y UVC (290-100 nm). Los efectos negativos de esta radiación son consecuencia de su acción sobre moléculas como las porfirinas, los carotenoides, los esteroides, las quinonas, las proteínas y los ácidos nucleicos. La radiación UV puede causar daños directos e indirectos sobre el ADN, que resultan en la formación de fotoproductos como los dímeros de pirimidinas (aparición de enlaces covalentes entre bases pirimidínicas adyacentes: cito-

sina-citosina o citosina-timina), los hidratos de pirimidina y el entrecruzamiento entre ADN y proteínas. Los daños directos son los más nocivos para la sobrevivencia de los microorganismos y principalmente se deben a la formación de especies reactivas de oxígeno, dentro de las que se destacan el peróxido de hidrógeno, el oxígeno singlete y los radicales hidroxilos, cuya acción se debe a que oxidan la pentosa presente en el ADN y generan el rompimiento de la hebra del ácido nucleico. En general, tanto los daños directos como los indirectos interfieren en la replicación normal del ADN y la intensidad del efecto depende de la cantidad de energía recibida (Devotto & Gerding, 2003).

El principal daño que produce la radiación ultravioleta sobre el ADN viral es la generación de dos tipos de dímeros de pirimidina: dímeros de pirimidin-ciclobutano y pirimidin-pirimidona (Friedberg, Walker & Siede, 1995). Otros autores han atribuido el efecto deletéreo de la radiación ultravioleta a la fotooxidación de uno o más aminoácidos como el triptófano, lo que produce altas cantidades de peróxido de hidrógeno y afectan negativamente los agentes de biocontrol (Ignoffo et al., 1977). Los virus ocluidos y no ocluidos expuestos a la radiación ultravioleta son rápidamente inactivados y su vida media es de pocas horas, como se observa en la tabla 7.4.

Limitantes para la producción viral

Uno de los principales problemas que limitan el uso y la comercialización de productos a base de virus es la producción viral. Los virus son patógenos obligados, lo que hace necesaria la infección de un hospedero para realizar su multiplicación, por lo cual la implementación de un sistema de producción *in vivo* es forzosa. El sistema *in vivo* sobre larvas del insecto es dispendioso y altamente demandante de mano de obra, lo que aumenta los costos de producción, además de presentar contaminación por otros microorganismos y diferencias en la productividad viral por falta de métodos estandarizados (Ruiz, Gómez-Valderrama, Chaparro, Sotelo, & Villamizar, 2015).

Además, existen otros problemas que afectan la producción, como la licuefacción del tegumento

de los insectos que dificulta la recuperación de las partículas virales o los hábitos propios de los insectos, como el canibalismo, que obliga a realizar una individualización de las larvas que requiere de mano de obra intensiva (Valicente, Tuelher, Pena, Andreazza, & Guimarães, 2013).

En sentido general, el proceso para la producción de virus sobre larvas del insecto abarca varias etapas (tabla 7.5), cuya estandarización, optimización y mecanización es crucial para la viabilidad económica del producto a comercializar.

A pesar de las limitantes descritas, hasta la fecha la producción a gran escala de virus entomopatógenos sobre larvas de insectos es la usada para todos los productos comerciales. Es por esto que existen diferentes productos ya registrados con sistemas estandarizados y con alta capacidad de producción. Tal es el caso del nucleopoliedrovirus de *Lymantria dispar* para el control de este insecto en cultivos de frutales y forestales, entre otros. Para su producción, se estandarizó un sistema que permite el manejo de 12.000 larvas/día y que redujo de manera significativa los costos por larva e hizo económicamente viable el producto (Bell et al., 1981). Otro de los casos

más estudiados ha sido el del NPV de *Helicoverpa zea* en China, donde se producen anualmente 100 toneladas del bioinsecticida para ser comercializado por diferentes compañías (Van Beek & Davis, 2016). Otros virus se producen a escala más pequeña, como es el caso del NPV de *Spodoptera litura*, *S. frugiperda*, GV de *C. pomonella*, entre otros, con miras a aumentar la producción para cubrir sus demandas a nivel mundial (Cherry, Parnell, Grzywacz, & Jones, 1997; Ruiz et al., 2015; Sun, 2015; Van Beek & Davis, 2016).

Dentro de las perspectivas en la producción de virus entomopatógenos, se estudia la producción *in vitro* en cultivo celular, lo que permitiría superar algunas limitantes de la producción sobre larvas, como la disminución de la contaminación tanto de microorganismos como de partes del insecto, la producción de virus salvajes y recombinantes de manera homogénea y la obtención de una mayor productividad. Aunque se ha sugerido una variedad de métodos para la producción *in vitro*, la escala de producción aún es muy baja para una introducción comercial y, además, debe superar limitantes como la producción de partículas defectivas con baja infectividad por vía oral después de pases sucesivos sobre las líneas celulares (Murhammer, 2007).

Tabla 7.4. Persistencia de algunas especies de baculovirus expuestos a la radiación solar

Virus	Luz	Inactivación
<i>Helicoverpa zea</i> NPV	Solar	82 % en 16 horas
<i>Pieris brassicae</i> GV	Solar	70 % en 7 días
<i>Plodia interpunctella</i> GV	Solar	98 % en 4 minutos
<i>Helicoverpa zea</i> NPV	Solar	96,7 % en 24 horas
<i>Galleria mellonella</i> NPV	Solar	50 % en 14 horas
<i>Phthorimaea operculella</i> GV	UVA/UVB	70 % en 10 horas
<i>Spodoptera frugiperda</i> NPV	UVB	85 % en 1 hora
<i>Spodoptera frugiperda</i> GV	UVB	94 % en 1 hora

Fuente: Elaboración propia con base en Villamizar (2011)

Tabla 7.5. Etapas en el proceso de producción masiva de virus entomopatógenos

Etapa	Descripción	Factores a considerar
Cría del insecto	Producción sistemática y automatizada de insectos que puede alcanzar una relación beneficio-costeo aceptable, ya que excede la productividad promedio en poblaciones silvestres (Kondo, 2011). Generalmente se busca beneficiar la obtención de un gran número de larvas en condiciones de asepsia y libres de virus.	• Uso de dieta artificial o natural a un bajo costo • Capacidad de producción • Tabla de vida del insecto • Obtención de insectos sanos (libres de patógenos, uniformes y vigorosos)
Selección de la edad larval para inoculación	Como este factor influye en la susceptibilidad del insecto a infecciones por entomopatógenos (Adamo, 2009), es necesario seleccionar la edad adecuada para la inoculación de larvas, que permita obtener la mayor mortalidad y los cadáveres de mayor tamaño, para garantizar la recuperación de gran cantidad de partículas virales.	• Desarrollo larval en la dieta seleccionada para producción • Método de inoculación: gota, dieta, etc. • Edad de las larvas (días, instar o peso)
	La vía de adquisición de la infección por virus es oral, por lo que es importante definir la forma de inoculación de las larvas. Asimismo, la dosis o concentración viral de inoculación tiene un efecto importante en la cantidad de tejido larval infectado, en la mortalidad de las larvas y en la cantidad de partículas virales que se producen.	• Método de inoculación: gota o dieta • Inóculo: pureza, pases y concentración • Respuesta uniforme de las larvas
Mantenimiento de larvas	Una vez inoculadas, las larvas deben mantenerse en las condiciones apropiadas que les permitan desarrollar la infección. Este proceso puede durar varios días o semanas, dependiendo del tipo de virus, la dosis de inoculación y la edad de las larvas.	• Dieta de alimentación • Densidad larval • Contenedores para la incubación • Temperatura, fotoperiodo y humedad
Cosecha	Momento de recolección de las larvas infectadas que permite la obtención de la mayor cantidad de partículas virales con la menor contaminación. Puede ser manual o, idealmente, automatizada.	• Tiempo de cosecha • Método • Peso de larvas • Mortalidad • Productividad • Contaminantes • Almacenamiento
Procesamiento y control de calidad	Elaboración del principio activo (suspensión viral) con las características deseadas para ingresar al proceso de formulación.	• Licuefacción de tejidos • Disminución de contaminantes • Concentración viral • Actividad biológica • Almacenamiento

Fuente: Elaboración propia

Así, en condiciones en las que la densidad de insectos es baja, la probabilidad de ingerir varias partículas virales que contengan genomas diferentes será también baja. A medida que la densidad de población del insecto huésped aumente, la probabilidad de ingerir varios genotipos aumentará rápidamente a lo largo del tiempo hasta situarse en condiciones de epizootia, en las cuales cada insecto ingerirá una dosis elevada de partículas, maximizando así la diversidad viral a medida que aumenta la presión de selección para la resistencia al virus.

En las condiciones de protección de cultivos por métodos de control inundativos, el objetivo es copiar estas condiciones de epizootia. Se debe, por tanto, aumentar la diversidad viral y aumentar las dosis, de forma que se garantice que cada individuo haya recibido varias partículas.

Por otro lado, si cada cultivo se intenta proteger con un mismo producto, y todavía peor, si este producto está compuesto por un solo genotipo, nos encontraremos en las condiciones ideales para el desarrollo de resistencias por parte del insecto huésped. El cambio de genotipos por rotación, tal y como se hace con las resistencias a los antibióticos, puede retrasar el fenómeno de multiresistencia, pero no conseguirá hacerlo desaparecer. Este cambio de perspectiva comienza a admitirse.

Según Ehlers (2011), la primera petición en el *White Paper on Registration of Biological Control Agents* de la International Biocontrol Manufacturers' Association (IBMA) en 2005 fue que el registro de agentes de control biológico no sea extrapolado de la reglamentación de registro de agentes químicos. En continuidad con esta reflexión se realizó el proyecto Rebeca, con financiación del 6º Programa marco para la investigación y el desarrollo tecnológico (Programme-cadre de recherche et développement technologique [PCRDT], en inglés, Framework Programme for Research and Technological Development) de la Dirección General de Investigación de la Comisión Europea. Las conclusiones de este proyecto europeo están contenidas en el libro *Regulation of Biological Control Agents* (Ehlers, 2011), donde se ha propuesto que, en los productos de control biológico a base de baculovirus, el registro pueda hacerse a nivel del aislado, y tal vez de la especie y no del genotipo (Hauschild, 2011). El conjunto de estos aspectos implica un cambio completo en la forma de programar la producción y el uso de los baculovirus y, por extensión, de todos los otros microorganismos que se usan como agentes de control biológico.

Desde el punto de vista del usuario final, es decir, del agricultor, se debe garantizar un seguimiento de las poblaciones de insectos, así como de su nivel de sensibilidad a los diferentes agentes que se puedan usar. Desde el punto de vista del fabricante del bioinsumo, hay que adaptar continuamente el producto a la población en la que se vaya a usar. Estos dos aspectos implican una cooperación necesaria entre los agricultores y los productores de agentes de control que no se puede reducir a una relación cliente-vendedor. Este cambio de perspectiva no implica una producción a pequeña escala, donde cada producto sea utilizable solamente en una zona geográfica reducida. Es posible una fabricación industrial importante, pero adaptada cada año a las poblaciones de insectos presentes.

El control de *Anticarsia gemmatilis* en Brasil es revelador, ya que en este caso se usaba una producción en campo sobre las larvas presentes. El análisis de los genomas por RFLP (del inglés *restriction fragment length polymorphism*) reveló que la composición genética de la población no era fija y la frecuencia relativa de ciertos fragmentos presentaba variaciones cíclicas a lo largo del tiempo. Este mismo fenómeno se observa en la composición de los aislados del nucleopoliedrovirus de la polilla gitana (*Lymantria dispar*). Las poblaciones

naturales de este insecto presentan ciclos de abundancia periódicamente, de entre 6 y 12 años, en los bosques del sur de Francia. Cuando el nivel de la población de insectos culmina, hay un desarrollo epizootico del virus. Los aislamientos de estos virus obtenidos a lo largo del tiempo no son similares, sino que ciertas variantes predominan en un momento dado y su frecuencia se reduce en otros momentos.

En el caso particular de los NPV, se ha podido demostrar que los cuerpos de inclusión pueden contener viriones genotípicamente diferentes (Arrizubieta, Simón, Caballero, & Williams, 2015). Por otro lado, la existencia de sinergia entre genotipos ya ha sido demostrada (López-Ferber et al., 2003). La conservación de la diversidad genética de la población viral, en este caso, está asegurada, ya que al ingerir un solo CI la larva puede infectarse con un gran número de genotipos diferentes. La utilización de este fenómeno para coocluir genotipos que presenten características apropiadas en un programa de control biológico abre nuevas facetas en el desarrollo de bioinsecticidas. Así, Bernal et al. (2014) optimizaron la eficacia de un aislado viral contra *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae). De forma similar, Arrizubieta et al. (2015) concluyeron diversos genotipos del HearsNPV para el control de *H. armigera*.

Una de las vías que se ha explorado para mejorar la eficacia de los virus entomopatógenos en su utilización como bioinsecticidas es su modificación genética, es decir, añadir o retirar del virus una secuencia. De esta forma se podrá mejorar la velocidad de acción mediante la inserción de una toxina o una hormona que perturbe el desarrollo de la larva o el espectro de huéspedes, si se introduce una proteína que permita sobrepasar un punto de bloqueo específico de un huésped. Desde los éxitos de los primeros trabajos (O'Reilly & Miller, 1991; Stewart et al., 1991; Tomalski & Miller, 1991) se ha conseguido mejorar un 20 % algunas características (Popham, Nusawardani, & Bonning, 2016).

Un ejemplo es el trabajo desarrollado por Nalcacioglu et al. (2016) para introducir el gen de la toxina del escorpión *Androctonus australis* en el genoma del *Chilo iriseus* virus. En dicha investigación se obtuvo una mejora en el tiempo letal, pero sin mejorar el parámetro principal para su posible utilización en control biológico, que es la capacidad de infección oral.

A pesar de los posibles beneficios, la modificación genética de virus se enfrenta con los mismos problemas de aceptación social que las plantas genéticamente modificadas, pero con más fuerza, dado el hecho del carácter infectivo de los virus. Además de esto, están los riesgos de desarrollo de resistencias de parte del huésped, dado que no se podrá tener una diversidad en las poblaciones virales.

Agradecimientos

Los autores manifiestan sus agradecimientos a todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Control Biológico de AGROSAVIA y muy especialmente a la doctora Alba Marina Cotes por su contribución pionera en el desarrollo de bioplaguicidas a base de baculovirus en Colombia. También a los doctores Octavio Zegarra, Jean Louis Zeddami, Xavier Léry, Primitivo Caballero, Ohiane Simon, Mariano Belaich, Pablo Daniel Ghiringhelli y Fernando Valicente por su generosa contribución en la capacitación de investigadores y el desarrollo de los proyectos y bioproductos virales de AGROSAVIA.

Referencias

- Adamo, S. (2009). The impact of physiological state on immune function in insects. En: J. Rolff y S. E. Reynolds (Eds.), *Insect Infection and Immunity: Evolution, Ecology and Mechanisms* (pp. 173-186). Nueva York, EE. UU.: Oxford University Press.
- Alarcón, J., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., & Rosero, A. (2012). *Manejo integrado de plagas enfermedades en el cultivo del caucho*. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).
- Andermatt Biocontrol. (s. f.). *Our products*. Recuperado de <http://www.andermatbiocontrol.com>.
- Arakawa, T. (2003). Chitin synthesis inhibiting antifungal agents promote nucleopolyhedrovirus infection in silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 83(3), 261-263.
- Arakawa, T., Furuta, Y., Miyazawa, M., & Kato, M. (2002). Flufenoxuron, an insect growth regulator, promotes peroral infection by nucleopolyhedrovirus (BmNPV) budded particles in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Virological Methods*, 100(1-2), 141-147.
- Arora, R., & Shera, P. S. (2014). Genetic improvement of biocontrol agents for sustainable pest management. En: K. Sahayaraj (Ed.), *Basic and applied aspects of biopesticides* (pp. 255-285). Nueva Delhi, India: Springer.
- Arrizubieta, M., Simón, O., Caballero, P., & Williams, T. (2015). *Novel genotypes of the Helicoverpa armigera single nucleopolyhedrovirus (hearSNPV), method for the production thereof, and use of same as a biological control agent*. World Intellectual Property Organization (WIPO) Patent WO/2015/197900A1. Recuperado de <http://www.sumobrain.com/patents/wipo/Novel-genotypes-helicoverpa-armigera-single/WO2015197900A1.pdf>.
- Arthurs, S., & Lacey, L. (2004). Field evaluation of commercial formulations of the codling moth granulovirus: persistence of activity and success of seasonal applications against natural infestations of codling moth in Pacific Northwest apple orchards. *Biological Control*, 31(3), 388-397. Recuperado de <https://pubag.nal.usda.gov/download/9802/PDF>.
- Arthurs, S., Lacey, L., & Fritts R. Jr. (2005). Optimizing use of codling moth granulovirus: effects of application rate and spraying frequency on control of codling moth larvae in Pacific Northwest apple orchards. *Journal of Economic Entomology*, 98(5), 1459-1468. Recuperado de <https://naldc.nal.usda.gov/download/1556/PDF>.
- Asser-Kaiser, S., Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Eberle, K., Gund, N., ... Jehle, J. A. (2007). Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. *Science*, 317(5846), 1916-1918. doi:10.1126/science.1146542.
- Barrera, G. P. (2013). *Spodoptera frugiperda nucleopolyhedrovirus: the basis for a biopesticide product in Colombia* (tesis doctoral). Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España. Recuperado de http://academica-e.unavarra.es/xmlui/bitstream/handle/2454/16983/Tesis_Barrera.pdf?sequence=4.
- Barrera, G. P., Belaich, M. N., Patarroyo, M. A., Villamizar, L. F., & Ghiringhelli, P. D. (2015). Evidence of recent interspecies horizontal gene transfer regarding nucleopolyhedrovirus infection of *Spodoptera frugiperda*. *BMC Genomics*, 16, 1008. doi:10.1186/s12864-015-2218-5.
- Barrera Cubillos, G. P., Gómez-Valderrama, J. A., & Villamizar Rivero, L. F. (2017). Efficacy of microencapsulated nucleopolyhedroviruses from Colombia as biological insecticides against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Agronómica*, 66(2), 267-274. doi:10.15446/acag.v66n2.54354.
- Barrera Cubillos, G. P., Gómez, J., Cuartas, P., León, G., & Villamizar Rivero, L. F. (2014). Caracterización morfológica, biológica y genética de un aislamiento colombiano de granulovirus de *Erinnyis ello* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae). *Revista Colombiana de Biotecnología* 16(2), 129-140. doi:10.15446/rev.colomb.biote.v16n2.41663.

- Bassi, A. (1835). And the sign of the plaster or disease that dormice afflicts bugs daseta Part-I., Tip Terica Orcesi Lod, pp. 1-67.
- Battu, G., Arora, R., & Dhaliwal, G. (2002). Prospects of baculoviruses in integrated pest management. In: O. Koul and G. S. Dhalival (Eds.), *Microbial biopesticides* (pp. 215-238). Londres, Inglaterra: Taylor & Francis.
- Behle, R. W., & Popham, H. J. (2012). Laboratory and field evaluations of the efficacy of a fast-killing baculovirus isolate from *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Invertebrate Pathology* 109(2), 194-200. doi:10.1016/j.jip.2011.11.002.
- Bell, R. A., Owens, C. D., Shapiro, M., Tardif, J. R. (1981). Mass rearing and virus production. Development of Mass-Rearing Technology. En C. Doane and M. L. McManus (Eds.), *The gypsy moth: research toward integrated pest management* (pp. 599-655). Recuperado de <https://naldc.nal.usda.gov/download/CAT82474520/PDF>.
- Bellotti, A. C., Arias, B., & Guzmán, O. (1992). Biological control of the cassava hornworm *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). *The Florida Entomologist*, 75(4), 506-515. doi:10.2307/3496132.
- Bellotti, A. C., Arias, B., Reyes, J. A., Fernández, F. O., Ceballos, L. F., & Medina, L. M. (1989). *Manejo integrado de Erinnyis ello (L.) (gusano cachón de la yuca), guía de estudio para ser usada como complemento de la Unidad Audiotutorial sobre el mismo tema*. Recuperado de http://books.google.com.co/books?id=Rud9PMRWUrC&printsec=frontcover&source=gbs_atb#v=onepage&q&f=false.
- Benz, G. A. (1986). Introduction: historical perspectives. En R. R. Granados, & B. Federici (Eds.), *Biology of Baculoviruses* (Vol. I; pp. 1-36). Boca Ratón, EE. UU.: CRC Press.
- Bergold, G. H. (1947). Die isolierung des polyeder-virus und die natur der polyeder. *Zeitschrift für Naturforschung*, 2(3-4), 122-143. doi:10.1515/znb-1947-3-408.
- Berling, M., Blachere-Lopez, C., Soubabere, O., Lery, X., Bonhomme, A., Sauphanor, B., & Lopez-Ferber, M. (2009). *Cydia pomonella* granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4), 925-930.
- Berling, M., Sauphanor, B., Bonhomme, A., Siegwart, M., & Lopez Ferber, M. (2013). A single sex-linked dominant gene does not fully explain the codling moth's resistance to granulovirus. *Pest Management Science*, 69(11), 1261-1266. doi:10.1002/ps.3493.
- Bernal, A., Simón, O., Williams, T., & Caballero, P. (2014). Stage-specific insecticidal characteristics of a nucleopolyhedrovirus isolate from *Chrysodeixis chalcites* enhanced by optical brighteners. *Pest Management Science*, 70(5), 798-804. doi:10.1002/ps.3617.
- Bhandari, K., Sood, P., Mehta, P. K., Choudhary, A., & Prabhakar, C. S. (2009). Effect of botanical extracts on the biological activity of granulosis virus against *Pieris brassicae*. *Phytoparasitica*, 37(4), 317-322.
- Bideshi, D., Bigot, Y., Federici, B., & Spears, T. (2010). Ascoviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 3-34). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.
- Biedma, M. E., Salvador, R., Ferrelli, M. L., Sciocco-Cap, A., & Romanowski, V. (2015). Effect of the interaction between *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus and *Epinotia aporema* granulovirus, on *A. gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Biological Control*, 91, 17-21. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.07.006.
- Bosch, A., Pintó, R. M., & Abad, F. X. (2006). Survival and transport of enteric viruses in the environment. En S. M. Mgoyal (Ed.), *Viruses in foods* (pp. 151-187). Recuperado de <http://www.ub.edu/virusenterics/wp-content/uploads/2013/06/GOY6.pdf>.
- Caballero, P., López-Feber, T. L., & Williams, T. (2001). *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Valencia, España: Phytoma-España.
- Caballero, P. W., & Williams, T. (2008). Virus entomopatógenos. En J. A. Jacas & A. Urbaneja (Eds.), *Control biológico de plagas agrícolas* (pp. 121-135). Valencia, España: Phytoma-España.
- Carballo, A., Murillo, R., Jakubowska, A., Herrero, S., Williams, T., & Caballero, P. (2017). Co-infection with iflaviruses influences the insecticidal properties of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus occlusion bodies: Implications for the production and biosecurity of baculovirus insecticides. *Plos One* 12(5), e0177301. doi:10.1371/journal.pone.0177301.
- Carlson, J., Suchman, E., & Buchatsky, L. (2006). Densoviruses for control and genetic manipulation of mosquitoes. *Advances in Virus Research*, 68, 361-392. doi:10.1016/S0065-3527(06)68010-X.
- Cisneros, J., Pérez, J. A., Penagos, D. I., Ruiz, J., Goulson, D., Caballero, P., ... Williams, T. (2002). Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Biological Control*, 23(1), 87-95. doi:10.1006/bcon.2001.0985
- Combes, C. (2001). *L'art d'être parasite: les associations du vivant*. París, Francia: Flammarion.
- Coulibaly, F., Chiu, E., Ikeda, K., Gutmann, S., Haebel, P., Schulze-Briese, C., ... Metcalf, P. (2007). The molecular organization of cypovirus polyhedra. *Nature*, 446(7131), 97-101.
- Cuartas, P., & Villamizar, L. (2011). Interacciones de los Virus Entomopatógenos y su Efecto sobre la Actividad

- Biológica. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 7(2), 220-239. Recuperado de <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/viewFile/2056/1586+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=co&client=firefox-b-ab>.
- Cuartas, P., Villamizar, L., Espinel, C., & Cotes, A. M. (2009). Infección de granulovirus nativos sobre *Tecia solanivora* y *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 35(2), 122-129. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v35n2/v35n2a03.pdf>.
- Chaparro, M., Espinel, C. C., Cotes, A. M. P., & Villamizar, L. R. (2010). Fotoestabilidad y actividad insecticida de dos formulaciones de granulovirus sobre larvas de *Tecia solanivora*. *Revista Colombiana de Entomología*, 36(1), 25-30. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v36n1/v36n1a06.pdf>.
- Cheng, X. W., Carner, G. R., & Arif, B. M. (2000). A new ascovirus from *Spodoptera exigua* and its relatedness to the isolate from *Spodoptera frugiperda*. *Journal of General Virology*, 81, 3083-3092. Recuperado de <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jgv/81/12/0813083a.pdf?expires=1516921147&id=id&accname=guest&checksum=3F04092C76D1AAB9DC45718EC18176CA>.
- Cherry, A., Parnell, M., Grzywacz, D., & Jones, K. (1997). The Optimization of in Vivo Nuclear Polyhedrosis Virus Production in *Spodoptera exempta* (Walker) and *Spodoptera exigua* (Hübner). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70(1), 50-58.
- Del Rincón, M. (2010). Los virus entomopatógenos: una alternativa viable en el control de plagas. En: Sociedad Mexicana de Control Biológico, *Memorias XXI Curso Nacional de Control Biológico* (pp. 111-120). Uruapan, México: Impresos Gutiérrez.
- Del Rincón, M., & Ibarra, J. (2011). Entomopathogenic Viruses. En: N. Rosas (Ed.), *Biological Control of Insect Pests* (pp. 29-64). Houston, EE. UU.: Studium Press LLC.
- Derksen, A. C., & Granados, R. R. (1988). Alteration of a lepidopteran peritrophic membrane by baculoviruses and enhancement of viral infectivity. *Virology*, 167, 242-250.
- Devotto, L., & Gerding, M. (2003). Respuesta de dos aislamientos chilenos de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin a la adición de un protector solar. *Agricultura Técnica*, 63(4), 339-346.
- Dougherty, E. M., Narang, N., Loeb, M., Lynn, D. E., & Shapiro, M. (2006). Fluorescent brightener inhibits apoptosis in baculovirus-infected gypsy moth larval midgut cells in vitro. *Biocontrol Science and Technology*, 16(2), 157-168.
- Eberle, K. E., & Jehle, J. A. (2006). Field resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely dominant inherited. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93(3), 201-206.
- Ehlers, R. U. (Ed.). (2011). *Regulation of Biological Control Agents*. Dordrecht, Holanda: Springer.
- El-Far, M., Li, Y., Fédière, G., Abol-Ela, S., & Tijssen, P. (2004). Lack of infection of vertebrate cells by the densovirus from the maize worm *Mythimna loreyi* (MIDNV). *Virus Research*, 99(1), 17-24.
- Erez, Z., Steinberger-Levy, I., Shamir, M., Doron, S., Stokar-Avihail, A., Peleg, Y., ... Albeck, S. (2017). Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. *Nature*, 541, 488-493.
- Espinel-Correal, C., Léry, X., Villamizar, L., Gómez, J., Zeddarn, J. L., Cotes, A. M., & López-Ferber, M. (2010). Genetic and biological analysis of Colombian *Phthorimaea operculella* granulovirus isolated from *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 76(22), 7617-7625.
- Falcon, L. A. (1976). Problems associated with the use of arthropod viruses in pest control. *Annual Review of Entomology*, 21, 305-324.
- Federici, B. A., Bideshi, D. K., Tan, Y., Spears, T., & Bigot, Y. (2009). Ascoviruses: superb manipulators of apoptosis for viral replication and transmission. En J. L. Van Etten (Ed.), *Lesser Known Large dsDNA Viruses* (pp. 171-196). Berlín, Alemania: Springer.
- Federici, B., & Bigot, Y. (2003). Origin and evolution of polydnviruses by symbiogenesis of insect DNA viruses in endoparasitic wasps. *Journal of Insect Physiology*, 49(5), 419-432.
- Federici, B. A., & Govindarajan, R. (1990). Comparative histopathology of three ascovirus isolates in larval noctuids. *Journal of Invertebrate Pathology*, 56(3), 300-311.
- Federici, B. A. (1993). Viral pathobiology in relation to insect control. En N. E. Beckage, S. N. Thompson, & B. A. Federici. *Parasites and pathogens of insects* (Vol. 2, Pathogen, pp. 81-101). San Diego, EE. UU.: Academic Press.
- Friedberg, E. C., Walker, G. C., & Siede, W. (1995). *DNA repair and mutagenesis*. Washington, EE. UU.: ASM Press.
- Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Zebitz, C. P., & Huber, J. (2005). Apfelwickler-granulovirus: erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-populationen. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 57(2), 29-34.
- García, F., Mosquera, M. T., Vargas, C., & Rojas, L. A. (2002). Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del maíz y otros cultivos en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 28(1), 53-60.
- Giri, L., Feiss, M. G., Bonning, B. C., & Murhammer, D. W. (2012). Production of baculovirus defective interfering

- particles during serial passage is delayed by removing transposon target sites in *fp25k*. *Journal of General Virology*, 93(Pt 2), 389-399. doi:10.1099/vir.0.036566-0.
- Gómez-Valderrama, J., Cuartas, P., Ruiz, J., Uribe, L., Santos, A., León, G., & Villamizar, L. (2014). Estabilidad de una formulación a base de un granulovirus colombiano de *Erinnyis ello* (Lepidoptera:Sphingidae). *Revista Hechos Microbiológicos*, 5(2, suplemento 2), 128. Recuperado de <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/hm/article/view/21416/17752>.
- Gómez, J., Cuartas, P., Ruiz, J., Villamizar, L., & León, G. (2015). Eficacia de una formulación a base de un granulovirus colombiano de *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen), *Resúmenes XLII Congreso Colombiano de Entomología* (pp. 79). Medellín, Colombia: Socolen.
- Gómez, J., Cuartas, P., León, G., Campos, J., Ruiz, C., Santos, A., & Villamizar, L. (2016). *Granulovirus para el control de Erinnyis ello (Lepidoptera: Sphingidae) en el cultivo de caucho natural*. Ponencia presentada en XXIII Congreso Latinoamericano de Microbiología y XIV Congreso Argentino de Microbiología. Rosario, Argentina.
- Gómez, J., Guevara, J., Cuartas, P., Espinel, C., & Villamizar, L. (2013). Microencapsulated *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: insecticidal activity and effect on arthropod populations in maize. *Biocontrol Science and Technology*, 23(7), 829-846.
- Gómez, J., Moreno, C., Vega, K., Cotes, A., & Villamizar, L. (2011). Formulation effect over insecticidal activity of *Phthorimaea operculella* granulovirus VG003 for controlling *Tecia solanivora*. *IOBC/WPRS Bulletin*, 66, 441-445.
- Gómez, J., Villamizar, L., Espinel, C., & Cotes, A. M. (2009). Comparación de la eficacia y la productividad de tres granulovirus nativos sobre larvas de *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 10(2), 152-158. Recuperado de <http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/download/137/140>.
- Gómez, J. A., Barrera, G., López-Ferber, M., Belaich, M., Ghiringhelli, P., & Villamizar, L. (2017). Potential of betabaculoviruses to control the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick). *Journal of Applied Entomology*, 142(1-2), 67-77.
- Goto, C., Mukawa, S., & Mitsunaga, T. (2015). Two Year Field Study to Evaluate the Efficacy of *Mamestra brassicae* Nucleopolyhedrovirus Combined with Proteins Derived from *Xestia c-nigrum* Granulovirus. *Viruses*, 7(3), 1062-1078. doi:10.3390/v7031062.
- Goulson, D., Martínez, A.-M., Hughes, W. O., & Williams, T. (2000). Effects of optical brighteners used in biopesticide formulations on the behavior of pollinators. *Biological Control*, 19(3), 232-236. Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.418.8527&rep=rep1&type=pdf>.
- Grisson, P. (1969). Reflexiones sobre la utilización de *Smithiavirus pityocampae* Vago en la lucha microbiológica contra *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Boletín del Servicio de Plagas Forestales*, 24, 105-112.
- Grisson, P., Vago, C., & Maury, R. (1959). La lutte contre la processionnaire du pin "*Thaumetopoea pityocampa*" Schiff dans le massif du ventoux. Essai d'utilisation pratique d'un virus spécifique. *Revue Forestière Française*, 5, 353-370. Recuperado de <http://hdl.handle.net/2042/27499>.
- Gröner, A. (1986). Specificity and safety of baculoviruses. En: R. R. Granados & B. Federici (Eds.), *The Biology of Baculoviruses*. (Vol. I, Biological Properties and Molecular Biology, pp. 177-202). Boca Raton, EE. UU.: CRC Press.
- Guo, H., Fang, J., Wang, J., Zhong, W., & Liu, B. (2007). Interaction of *Xestia c-nigrum* granulovirus with peritrophic matrix and *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera litura*. *Journal of Economic Entomology*, 100(1), 20-25. Recuperado de <http://ipp.jaas.ac.cn/Article/UploadFiles/200907/2009072310303981.pdf>.
- Haase, S., Sciocco-Cap, A., & Romanowski, V. (2015). Baculovirus insecticides in Latin America: historical overview, current status and future perspectives. *Viruses*, 7(5), 2230-2267. doi:10.3390/v7052230.
- Hauschild, R. (2011). Facilitations in the regulation of plant protection products containing baculoviruses. En R. Ehlers (Ed.), *Regulation of Biological Control Agents* (pp. 259-266). Dordrecht, Holanda: Springer.
- Hoffmann-Campo, C. B., Moscardi, F., Corrêa-Ferreira, B. S., Oliveira, L. J., Sosa-Gómez, D. R., Panizzi, A. R., ... Oliveira, E. D. (2000). *Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado*. Recuperado de https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/circtec30_000g46xpyyv02wx5ok0iuqakbbpq943.pdf.
- Hoover, K., Humphries, M. A., Gendron, A. R., & Slavicek, J. M. (2010). Impact of viral enhancer genes on potency of *Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus in *L. dispar* following disruption of the peritrophic matrix. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104(2010), 150-152. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/13d3/3cd93ea157b8f2bc278ed906fbc123d871b5.pdf>.
- Huber, J. (1986). Use of baculoviruses in pest management programmes. En: R. R. Granados, & B. Federici (Eds.), *The Biology of Baculoviruses*. (Vol. II, Practical Application for Insect Control, pp. 181-202). Boca Raton, EE. UU.: CRC Press.
- Hukuhara, T., & Wijonarko, A. (2001). Enhanced fusion of a nucleopolyhedrovirus with cultured cells by a virus enhancing factor from an entomopoxvirus. *Journal of Invertebrate Pathology*, 77(1), 62-67.

- Ibarra, J. E., & Del Rincón M. C. (1998). Virus entomopatógenos. En *Curso Nacional de Control Biológico* (pp. 90-103). Río Bravo, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico.
- Ignoffo, C. M., Hostetter, D. L., Sikorowski, P. P., Sutter, G., & Brooks, W. M. (1977). Inactivation of representative species of entomopathogenic viruses, a bacterium, fungus and protozoan by an ultraviolet light source. *Environmental Entomology*, 6(3), 411-415.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). 2017. *Productos registrados bioinsumos*. Recuperado de <http://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/PRODUCTOSBIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx>.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2016). *Virus taxonomy: 2016 Release*. Recuperado de <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.
- Ince, I. A., Demir, I., Demirbag, Z., & Nalcacioglu, R. (2007). A cytoplasmic polyhedrosis virus isolated from the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(4), 632-637.
- Ishimori, N. (1934). Contribution à l'étude de la grasserie du ver a soie (*Bombyx mori*). *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses filiales*, 116, 1169-1170.
- Jehle, J., Schulze-Bopp, S., Undorf-Spahn, K., & Fritsch, E. (2017). Evidence for a second type of resistance against *Cydia pomonella* Granulovirus in field populations of codling moths. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(2), e02330-02316. doi:10.1128/AEM.02330-16.
- Jehle, J. A., Lange, M., Wang, H., Hu, Z., Wang, Y., & Hauschild, R. (2006). Molecular identification and phylogenetic analysis of baculoviruses from Lepidoptera. *Virology*, 346(1), 180-193. doi:10.1016/j.virol.2005.10.032.
- Kelly, D. (1982). Baculovirus replication. *Journal of General Virology*, 63, 1-13.
- Kirby, W., & Spencer, W. (1826). *An introduction to entomology*. Londres, Inglaterra: Longman, Hurst, Rees, Orme, and Borwn.
- Komárek, J., & Breindl, V. (1924). Die Wipfelkrankheit der Nonne und der Erreger derselben. *Journal of Applied Entomology*, 10(1), 99-162.
- Kondo, T. (2011). Notas sobre el uso correcto del término técnico para referirse a la cría masiva de insectos y otros artrópodos: cría masiva vs. cría masal y cría en masa. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 12(2), 26-28. Recuperado de <http://entomologia.univalle.edu.co/boletin/5Kondo2.pdf>.
- Kozuma, K., & Hukuhara, T. (1994). Fusion characteristics of a nuclear polyhedrosis virus in cultured cells: time course and effect of a synergistic factor and pH. *Journal of Invertebrate Pathology*, 63(1), 63-67. doi:10.1006/jipa.1994.1010.
- Kruger, D., Schneck, P., & Gelderblom, H. (2000). Helmut Ruska and the visualisation of viruses. *The Lancet*, 355(9216), 1713-1717.
- Kurstak, S., Belloncik, S., & Brailovsky, C. (1969). Transformation de cellules L de souris par un virus d'invertébrés: le virus de la densonucléose (VDN). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 269, 1716-1719.
- Lacey, L., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D., Frutos, R., Brownbridge, M., & Goettel, M. (2015). Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, 132, 1-41. doi:10.1016/j.jip.2015.07.009.
- Lasa, R., Pagola, I., Ibanez, I., Belda, J. E., Williams, T., & Caballero, P. (2007). Efficacy of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus as a biological insecticide for beet armyworm control in greenhouses of southern Spain. *Biocontrol Science and Technology*, 17(3), 221-232. doi:10.1080/09583150701211335.
- LeConte, J. (1874). Hints for the promotion of economic entomology. *Proceedings of the American Association for the Advancement of Science*, 22, 10-22.
- León, M., Beltrán, G. A., Campos, J. A., & Juan, C. (2010). *Enemigos naturales y manejo integrado del gusano cachón (Erinnyis ello) en el cultivo del caucho (Hevea brasiliensis)*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/270161239_Enemigos_naturales_y_manejo_integrado_del_gusano_cachon_Erinnyis_ello_en_el_cultivo_del_caucho.
- Lepore, L. S., Roelvink, P. R., & Granados, R. R. (1996). Enhancin, the granulosis virus protein that facilitates nucleopolyhedrovirus (NPV) infections, is a metalloprotease. *Journal of Invertebrate Pathology*, 68(2), 131-140. doi:10.1006/jipa.1996.0070.
- Lewis, F. (1981). Gypsy moth nucleopolyhedrosis virus. En C. Doane, & M. L. McManus (Eds.), *The gypsy moth: research toward integrated pest management* (pp. 454-455). Recuperado de <https://naldc.nal.usda.gov/download/CAT82474520/PDF>.
- Linley, J., & Nielsen, H. (1968). Transmission of a mosquito iridescent virus in *Aedes taeniorhynchus*: I. Laboratory experiments. *Journal of Invertebrate Pathology*, 12(1), 7-16.
- Lipsont, S. M., & Stotzky, G. (1984). Effect of proteins on reovirus adsorption to clay minerals. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(3), 525-530.
- López-Ávila, A., & Espitia-Malagón, E. (2000). *Plagas y benéficos en el cultivo de la papa en Colombia*. [Boletín Técnico Divulgativo Corpoica]. Bogotá, Colombia: Produmedios.
- López-Ferber, M., Simón, O., Williams, T., & Caballero, P. (2003). Defective or effective? Mutualistic interactions between virus genotypes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1530), 2249-2255. doi:10.1098/rspb.2003.2498.

- Marina, C. F., Feliciano, J. M., Valle, J., & Williams, T. (2000). Effect of temperature, pH, ion concentration, and chloroform treatment on the stability of invertebrate iridescent virus 6. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75(1), 91-94.
- Martínez, A., Tapiero, A., León, G., Arguello, O., Gutiérrez, A., García, F., ... Pinzón, Y. (2013). *Modelo productivo para el cultivo del árbol de caucho natural en la Orinoquía. Zonas de escape y no escape al Mal Suramericano de la hojas de Caucho*. Bogotá, Colombia: Corporación Centro de Investigación en Caucho (Cenicauco), Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Martínez, A. M., Simón, O., Williams, T., & Caballero, P. (2003). Effect of optical brighteners on the insecticidal activity of a nucleopolyhedrovirus in three instars of *Spodoptera frugiperda*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 109(2), 139-146. Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.485.406&rep=rep1&type=pdf>.
- McWilliam, A. (2006). *Environmental impact of baculoviruses*. Recuperado de http://www.fao.org/docs/eims/upload/agrotech/2003/R7299_FTR_anx3.pdf.
- Miele, S. A. B., Garavaglia, M. J., Belaich, M. N., & Ghiringhelli, P. D. (2011). Baculovirus: molecular insights on their diversity and conservation. *International Journal of Evolutionary Biology*, 2011, 379424. doi:10.4061/2011/379424.
- Miller, L. K. (1997). *The Viruses: The baculoviruses*. Nueva York, EE. UU.: Plenum Press.
- Mitsuhashi, W. (2009). Recent advances in studies for the application of a protein produced by entomopoxviruses (poxviridae) for insect-pest control. *Japan Agricultural Research Quarterly JARQ*, 43(4), 289-294. Recuperado de https://www.jircas.go.jp/sites/default/files/publication/jarq/43-04-03_0.pdf.
- Mitsuhashi, W., & Sato, M. (2000). Enhanced infection of a nucleopolyhedrovirus in a lepidopteran pest (*Spilosoma imparilis*) by spindles of a coleopteran entomopoxvirus (EPV) (*Anomala cuprea* EPV). *Journal of Forest Research*, 5(4), 285-287. doi:10.1007/BF02767123.
- Morales, L., Moscardi, F., Sosa-Gómez, D. R., Paro, F. E., & Soldorio, I. L. (2001). Fluorescent brighteners improve *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) activity on AgMNPV-susceptible and resistant strains of the insect. *Biological Control*, 20(3), 247-253. doi:10.1006/bcon.2000.0904.
- Mori, H., & Metcalf, P. (2010). Cypoviruses. En S. Asgari, & K. N. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 307-323). Haverhill, Reino Unido: Caister Academic Press.
- Moscardi, F. (1989). Use of viruses for pest control in Brazil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84(3), 51-56.
- Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 44, 257-289. doi:10.1146/annurev.ento.44.1.257.
- Moscardi, F., de Souza, M. L., de Castro, M. E. B., Moscardi, M. L., & Szewczyk, B. (2011). Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. En I. Ahmad, F. Ahmad, & J. Pichtel (Eds.), *Microbes and microbial technology* (pp. 415-445). Nueva York, EE. UU.: Springer.
- Mukawa, S., & Goto, C. (2007). Enhancement of nucleopolyhedrovirus infectivity against *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) by proteins derived from granulovirus and a fluorescent brightener. *Journal of Economic Entomology*, 100(4), 1075-1083.
- Mukawa, S., & Goto, C. (2010). *Mamestra brassicae* nucleopolyhedrovirus infection and enhancing effect of proteins derived from *Xestia c-nigrum* granulovirus in larvae of *Mamestra brassicae* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on cabbage. *Journal of Economic Entomology*, 103(2), 257-264.
- Mukawa, S., & Goto, C. (2011). Enhancing effect of proteins derived from *Xestia c-nigrum* granulovirus on *Mamestra brassicae* nucleopolyhedrovirus infection in larvae of *Autographa nigrisigna* (Lepidoptera: Noctuidae) on cabbage. *Applied Entomology and Zoology*, 46(1), 55-63.
- Murhammer, D. W. (Ed.). (2007). *Baculovirus and insect cell expression protocols*. Recuperado de <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-59745-457-5>.
- Nalcacioglu, R., Muratoğlu, H., Yeşilyurt, A., Van Oers, M. M., Vlak, J. M., & Demirbağ, Z. (2016). Enhanced insecticidal activity of Chilo iridescent virus expressing an insect specific neurotoxin. *Journal of Invertebrate Pathology*, 138, 104-111.
- Nazir, J., Haumacher, R., Ike, A. C., & Marschang, R. E. (2011). Persistence of Avian Influenza Viruses in Lake Sediment, Duck Feces, and Duck Meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(14), 4981-4985. doi:10.1128/AEM.00415-11.
- Nealson, K., & Hastings, J.W. (1979). Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiological Reviews*, 43(4), 496-518.
- Negrete, F., & Morales, A. (2003). *El gusano cogollero del maíz (Spodoptera frugiperda Smith)*. Recuperado de http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4870/2/20061127153058_El%20gusano%20cogollero%20del%20maiz.pdf.
- Okuno, S., Takatsuka, J., Nakai, M., Ototake, S., Masui, A., & Kunimi, Y. (2003). Viral-enhancing activity of various stilbene-derived brighteners for a *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus. *Biological Control*, 26(2), 146-152. doi:10.1016/s1049-9644(02)00122-6.

- Ordóñez-García, M., Ríos-Velasco, C., Berlanga-Reyes, D. I., Acosta-Muñiz, C. H., Salas-Marina, M. Á., & Cambero-Campos, O. J. (2015). Occurrence of natural enemies of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Chihuahua, Mexico. *The Florida Entomologist*, 98(3), 843-847. doi:10.1653/024.098.0305.
- O'Reilly D. R., & Miller L. K. (1991) Improvement of a baculovirus pesticide by deletion of the EGT gene. *Bio/Technology* 9, 1086-1089. doi:10.1038/nbt1191-1086.
- Paillot, A. (1926). Sur une nouvelle maladie du nœud ou grasseur des chenilles de *P. brassicae* et un nouveau groupe de microorganismes parasites. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 182, 180-182.
- Pasteur, L. (1870). *Études sur la maladie des vers à soie*. Paris, Francia: Gauthier-Villars.
- Perera, S., Li, Z., Pavlik, L., & Arif, B. (2010). Entomopoxviruses. Ascoviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 83-102). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.
- Pérez, L., Puerta, M. C., Bustillo, A., & Madrigal, A. (1988). Evaluación del Baculovirus phthorimaeae VG en larvas de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Revista Colombiana de Entomología*, 14(2), 33-40.
- Pesticideinfo. (2018). *PANPesticides Database*. Recuperado de <http://www.pesticideinfo.org>.
- Popham, H. J., Nusawardani, T., & Bonning, B. C. (2016). Introduction to the use of baculoviruses as biological insecticides. En D. W. Murhammer (Ed.), *Baculovirus and insect cell expression protocols* (pp. 383-392). Recuperado de <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-59745-457-5>.
- Possee, R. D., Griffiths, C. M., Hitchman, R. B., Chambers, A., Murguía-Meca, F., Danquah, J. ... King, L. (2010). Baculoviruses: biology, replication and exploitation. En S. Asgari, & K. Johnson. *Insect virology* (pp. 35-57). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.
- Pratissoli, D., Zanúncio, J. C., Barros, R., & Oliveira, H. N. d. (2002). Leaf consumption and duration of instars of the cassava defoliator *Erinnyis ello* (L., 1758) (Lepidoptera, Sphingidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 46(3), 251-254.
- Renault, S., Stasiak, K., Federici, B., & Bigot, Y. (2005). Commensal and mutualistic relationships of reoviruses with their parasitoid wasp hosts. *Journal of Insect Physiology*, 51(2), 137-148.
- Rezapanah, M., Shojai-Estabragh, S., Huber, J., & Jehle, J. (2008). Molecular and biological characterization of new isolates of *Cydia pomonella* granulovirus from Iran. *Journal of Pest Science*, 81, 187. doi:10.1007/s10340-008-0204-2.
- Rodríguez-Pérez, M. A., & Beckage, N. E. (2006). Estrategias co-evolutivas de la interacción entre parasitoides y polidnavirus. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(1), 31-43.
- Rodríguez, J. M., Salas, M. L., & Viñuela, E. (1992). Genes homologous to ubiquitin-conjugating proteins and eukaryotic transcription factor SII in African swine fever virus. *Virology*, 186(1), 40-52.
- Romero, R. (2007). *Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias* (3.a ed.). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
- Rohrmann, G. (2011). *Baculovirus molecular biology*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK49500/>.
- Ruiz, C., Gómez-Valderrama, J., Chaparro, M., Sotelo, P., & Villamizar, L. (2015). Ajuste de las condiciones de un sistema para la producción *in vivo* de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biotechnología Aplicada*, 32(4), 4311-4316.
- Sauphanor, B., Berling, M., Toubon, J.-F., Reyes, M., Delnatte, J., & Allemoz, P. (2006). Carpocapse des pommes cas de résistance au virus de la granulose en vergers biologiques: fruits et légumes. *Phytoma-La défense des végétaux*, 590, 24-27.
- Schmitt, A. (1988). Uso de Baculovirus erinnyis para el control biológico del gusano cachón de la yuca. *Yuca: Boletín Informativo* 12(1), 1-4.
- Schmutterer, H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*, 35, 271-297. doi:10.1146/annurev.en.35.010190.001415.
- Senthil, N. K., Murugan, K., & Zhang, W. (2008). Additive interaction of *Helicoverpa armigera* Nucleopolyhedrovirus and Azadirachtin. *BioControl*, 53, 869. doi:10.1007/s10526-007-9115-z.
- Senthil, N. S., & Kalaivani, K. (2005). Efficacy of nucleopolyhedrovirus and azadirachtin on *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control*, 34(1), 93-98. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.03.001.
- Shapiro, M. (2000). Enhancement in activity of homologous and heterologous baculoviruses infectious to beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) by an optical brightener. *Journal of Economic Entomology*, 93(3), 572-576.
- Shapiro, M., El Salamouny, S., & Merle Shepard, B. (2008). Green tea extracts as ultraviolet protectants for the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, nucleopolyhedrovirus. *Biocontrol Science and Technology*, 18(6), 591-603.
- Shelby, K. S., & Webb, B. A. (1999). Polydnavirus-mediated suppression of insect immunity. *Journal of Insect Physiology*, 45(5), 507-514.
- Smith, K. M., & Wyckoff, R. W. G. (1950). Structure within polyhedra associated with insect virus diseases. *Nature*, 166, 861-862.
- Simón, O., Williams, T., López-Ferber, M., & Caballero, P. (2005). Functional importance of deletion

- mutant genotypes in an insect nucleopolyhedrovirus population. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4254-4262.
- Slavicek, J. M. (2012). Baculovirus enhancins and their role in viral pathogenicity. En M. P. Adoga (Ed.), *Molecular virology* (pp. 147-168). Recuperado de https://www.nrs.fs.fed.us/pubs/jrnl/2012/nrs_2012_slavicek_001.pdf.
- Song, J., Wang, X., Hou, D., Huang, H., Liu, X., Deng, F., ... & Wang, M. (2016). The host specificities of baculovirus per os infectivity factors. *PloS One*, 11(7), e0159862. doi:10.1371/journal.pone.0159862.
- Sosa-Gómez, D., Moscardi, F., Santos, B., Alves, L., & Alves, S. (2008). Produção e uso de vírus para o controle de pragas na América Latina. En S. Alves & R. Lopes (Eds.), *Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios* (pp. 49-58). Piracicaba, Brasil: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ).
- Steinhaus, E.A. (1949). *Principles of Insect Pathology*. Nueva York, EE. UU.: McGraw-Hill.
- Stewart, L. M., Hirst, M., López Ferber, M., Merryweather, A. T., Cayley, P. J., & Poses, R. D. (1991): Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect specific toxin gene. *Nature*, 352(6330), 85-88.
- Strand, M. (2010). Polydnnaviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 171-197). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.
- Sun, X. (2015). History and current status of development and use of viral insecticides in China. *Viruses*, 7(1), 306-319.
- Szewczyk, B., Hoyos-Carvajal, L., Paluszek, M., Skrzecz, I., & De Souza, M. L. (2006). Baculoviruses—re-emerging biopesticides. *Biotechnology Advances*, 24(2), 143-160.
- Szewczyk, B., Rabalski, L., Krol, E., Sihler, W., & Lobo de Souza, M. (2009). Baculovirus biopesticides—a safe alternative to chemical protection of plants. *Journal of Biopesticides*, 2(2), 209-216.
- Tanada, Y. (1959a). Descriptions and characteristics of a nuclear polyhedrosis virus and a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera, Noctuidae). *Journal of Insect Pathology*, 1, 197-214.
- Tanada, Y. (1959b). Synergism between two viruses of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera, Noctuidae). *Journal of Insect Pathology*, 1, 215-231.
- Tijssen, P., & Bergoin, M. (1995). Densonucleosis viruses constitute an increasingly diversified subfamily among the parvoviruses. *Seminars in Virology*, 6(5), 347-355. doi:10.1006/smv.1995.0041.
- Tomalski, M. D., & Miller, L. K. (1991). Insect paralysis by baculovirus-mediated expression of a mite neurotoxin gene. *Nature*, 352(6330), 82-85.
- Universität Mannheim. (s. f.). *Vida, Marco Girolamo (c. 1485-1566)*. Recuperado de http://www.uni-mannheim.de/mateo/itali/autoren/vida_itali.html.
- Valicente, F., Tuelher, E., Pena, R., Andreazza, R., & Guimarães, M. (2013). Cannibalism and virus production in *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera:

- Noctuidae) larvae fed with two leaf substrates inoculated with baculovirus spodoptera. *Neotropical Entomology*, 42(2), 191-199.
- Valicente, F. H., Tuelher, E. d. S., Paiva, C., Gumaraes, M., Macedo, C., & Wolff, J. (2008). A new baculovirus isolate that does not cause the liquefaction of the integument in *Spodoptera frugiperda* dead larvae. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 7(1), 77-82.
- Van Beek, N., & Davis, D.C. (2016). Baculovirus Insecticide Production in Insect Larvae. *Methods in Molecular Biology*, 1350, 393-405. doi:10.1007/978-1-4939-3043-2_20.
- Vargas, B., Rubio, S., & López-Ávila, A. (2004). Estudios de hábitos y comportamiento de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en papa almacenada. *Revista Colombiana de Entomología*, 30(2), 211-217.
- Villamizar, L., Zeddarn, J., Espinel, C., & Cotes, A. (2005). Implementación de técnicas de control de calidad para la producción de un bioplaguicida a base del granulovirus de *Phthorimaea operculella* Phop GV. *Revista Colombiana de Entomología*, 31(2), 127-132.
- Villamizar, L., Barrera, G., Cotes, A. M. & Martínez, F. (2010). Eudragit S100 microparticles containing *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: physicochemical characterization, photostability and in vitro virus release. *Journal of Microencapsulation*, 27(4), 314-324.
- Villamizar, L. F. (2011). Virus entomopatógenos y cambio climático. En Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen) (Ed.), *Memorias xxxvii Congreso Socolen Cambio climático: Retos y oportunidades para la entomología* (pp. 127-143). Manizales, Colombia: Socolen.
- Villanueva, D., & Saldamando, C. (2013). *Tecia solanivora*, Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae): una revisión sobre su origen, dispersión y estrategias de control biológico. *Ingeniería y Ciencia*, 9(18), 197-214.
- Von Tubeuf, C. (1892). Die Krankheiten der Nonne. *Naturwissenschaften Z*, 1, 34-47.
- Williams, T., Barbosa-Solomieu, V., & Chinchar, V. G. (2005). A decade of advances in iridovirus research. *Advances in Virus Research*, 65, 173-248.
- Williams, T., & Ward, V. (2010). Iridoviruses. En S. Asgari & K. Johnson (Eds.), *Insect virology* (pp. 123-152). Norfolk, Reino Unido: Caister Academic Press.
- Xeros, N. (1952). Cytoplasmic polyhedral virus diseases. *Nature*, 170, 1073. doi:10.1038/1701073a0.
- Xu, J., & Hukuhara, T. (1992). Enhanced infection of a nuclear polyhedrosis virus in larvae of the armyworm, *Pseudaletia separata*, by a factor in the spheroids of an entomopoxvirus. *Journal of Invertebrate Pathology*, 60(3), 259-264.
- Zenner, I., Arévalo, H. A., & Mejía, R. (2007). El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1(1), 103-113.
- Zhu, R., Liu, K., Peng, J., Yang, H., & Hong, H. (2007). Optical brightener M2R destroys the peritrophic membrane of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Pest Management Science*, 63(3), 296-300.

El control biológico implica el uso tanto de bacterias, hongos y virus, como de insectos benéficos para el control de fitopatógenos o de insectos plaga, según el caso. Este sistema de control ofrece un enfoque amigable con el medio ambiente que se puede incluir al manejo integrado, en el cual se incorporan los controles cultural, físico y genético y al uso racional de agroquímicos, entre otros. Esta publicación representa una compilación única de 25 capítulos sobre los agentes de control biológico, productos disponibles, casos de éxito y perspectivas, que han sido escritos por reconocidos expertos en su campo de investigación.

Este libro comprende capítulos específicos sobre los diferentes tipos de agentes de biocontrol utilizados para el control de enfermedades y de insectos plaga mediante el uso de bacterias, hongos y virus benéficos, en estos se revisa la historia del control biológico, se destacan los principales agentes de control utilizados, sus modos de acción, los productos comerciales disponibles, los casos de estudio y las perspectivas de cada tema. También se incluyen capítulos sobre el uso de depredadores y parasitoides, en los que se muestra el contexto histórico, casos de éxito y las perspectivas de su uso. Así mismo, contiene capítulos sobre los aspectos de investigación y desarrollo que conducen a la obtención de agentes de control biológico disponibles para productores agrícolas, profundizando en las etapas de prueba de concepto, desarrollo de productos, escalamiento, registro, comercialización y mercado, además de los aspectos sobre el valor de la tecnología. Igualmente se incluyen varios capítulos sobre las perspectivas y el futuro de los diferentes componentes de control biológico explotados y otros que podrían tener gran potencial hacia el futuro.

ISBN: 978-958-740-255-1



9 789587 402551

ISBN: 978-958-740-256-8



9 789587 402568



BAC

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

Correo: bac@agrosavia.co

Teléfono: (+57 1) 4227300 Ext. 1257 o 1274

Skype: biblioteca.agropecuaria

**DISTRIBUCIÓN GRATUITA
PROHIBIDA SU VENTA**



**El campo
es de todos**

Minagricultura